



République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abbès Laghrou-Khenchela-  
Faculté des Sciences de la nature et de la vie  
Département de biologie moléculaire et cellulaire

**Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de MASTER**  
**Option : Biochimie Appliqué**

**Thème :**

Etude de validation statistique d'une méthode de dosage  
spectrale du médicament Paracétamol 1000 mg

Présenté par : Ferhati Djazia  
Zerari Amel  
Chedida Safa

**Jury de soutenance :**

Président : **Dr. Bouazza Lyas**..... MCA Université Abbès Laghrou- Khenchela-  
Encadreur : **Pr. Boufennara Souhil** ..... Pr. Université Abbès Laghrou-Khenchela-  
Examineur : **Mr. Rahal Khaled**..... MAA Université Abbès Laghrou- Khenchela-

**Promotion : 2021/2022**



## Remerciement

Nous remercies en premier Allah de m'avoir accordé la puissance et la volonté pour achever ce travail.

Nous remercies vivement Monsieur **Boufennara Souhil**, professeur à l'université de Khenchela, qui nous a fait l'honneur de nous encadrer et pour nous a avoir fait confiance et accepté de diriger ce modeste travail de Mastère pour son aide dans la réalisation de notre recherches.

Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **Dr. Bouazza Lyas**, d'avoir accepté la présidence du jury de soutenance.

Nous tenons à remercier avec la plus grande gratitude **Mr. Rahal Khaledde** l'honneur qu'il nous a fait d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont également à Mes collègues, et à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin, par leurs conseils, leurs suggestions et par leurs encouragements, à la réalisation de ce travail.

## DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la lumière de ma vie, la source de mes efforts, mes très chers parents qui sont toujours encouragés, pour leur amour, patience, confiance, éducation et sacrifice, mon père **Ali** et ma mère **Rabiah** que Allah les protège pour moi.*

*A mes chers frères : **Mourde, Antar, Massaude, Aboubaker***

*A toute ma famille*

*A mon fiancé ; **Rafik et sa famille***

*A ma très chère amie, ma sœur, ma belle : **Nabila***

*A mes chère amie ; **Hadjer, Dodo, wafa, chaima, Chahra zade, Maryame.***

*A mes chères amies, ma trinômes : **Safa, Amel***

*Sans oublier mes camarades de la promotion :*

*2ème année Master biochimie appliqué*

*Djazia*

## DEDICACE

*Je tiens très respectueusement à dédié ce modeste travail aux deux personnes qui me sont le plus chères au monde :*

*Mon père : **Nabil***

*Ma mère : **Messaouda***

*Pour leurs soutien et encouragements, que nulle dédicace ne puisse exprimer ce que je leur dois pour leur bienveillance, leur affection et pour leurs précieux conseils et soutient, qui ont su me guider vers la réussite, que dieu me les garde.*

*J'espère qu'il sera pour vous une raison de plus pour être fier de moi.*

*A mes chers et adorables frères :*

***Ihab et Hammada***

*Pour leurs amours et leurs dispositions et leurs encouragements*

*À qui je souhaite une longue et belle vie.*

*A ma grand-mère.*

*A ma très chère amie, ma sœur:*

***Nour El Houda***

*A toutes mes belles amies :*

***Firouz, ChahraZad, Hadjar, Dounia, Wafa, Chiama, Maryame.***

*Un grand merci pour mes partenaires dans ce travail.*

***Djazia et Safa.***

*Amel.*

## DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chère parents **M'hammed et Nassira** pour leur amour, confiance, éducation et sacrifice, et sans leurs soutiens je ne serais pas arrivé à ce que je suis.*

*A mes chers et adorables frères :*

***Akram et Abed el Karim, Rayan, taqui, Saif Elislam et Anis.***

*A mes très chères sœurs :*

***Marwa et Nour Elyakin***

*Pour leurs amours et leurs dispositions et leurs encouragements*

*À qui je souhaite une longue et belle vie.*

*A toutes mes belles amies :*

***Feriel, Warda, Radja, Fatima, Hadjer, Chahrazad, Wafa, Chaima et Maryam,**  
**Dounia***

*Un grand merci pour mes :*

***Amel et Djazia***

*Safa.*

### Résumé

Dans les laboratoires pharmaceutiques la validation des méthodes analytique avant libération d'un médicament sur le marché est une étape importante et nécessaire pour garantir la qualité du produit qui va être délivré aux patients, qui sont tenus de prouver que les méthodes d'analyses employées sont parfaitement valides et fiables, la validation est un critère essentiel de l'assurance de la qualité.

A travers ce travail, nous avons effectué une étude analytique sur les différents essais physico-chimiques existants, pour la validation de la méthode analytique dosage par le spectrophotomètre dans l'ultra-violet du médicament paracétamol 1000 mg appartenant à la classe thérapeutique des antalgique, en se basant dans cette démarche sur les critères de la validation qui est : **spécificité, l'exactitude, la linéarité, la reproductibilité et la répétabilité.**

Nos résultats expérimentaux et les tests statistiques réalisés montrent que pour la méthode de validation est linéaire dans une gamme de concentration définie. Le coefficient de corrélation ( $r$ ) de l'équation de régression était supérieur 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 ces résultats la méthode est spécifique, linéaire, précise, exacte, reproductible et peut être appliquée à l'analyse du médicament paracétamol avec un excellent taux de recouvrement.

### Mots clés.

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

## **Abstract**

In pharmaceutical laboratories, the validation of analytical methods before release of a drug on the market is an important step and necessary to guarantee the quality of the product that will be issued to patients, which are required to prove that the analysis methods used are perfectly valid and reliable. Validation is an essential criterion for quality insurance.

Through this work, we have carried out an analytical study on the various existing physico-chemical trials, for the validation of the analytical method dosage by the spectrophotometer in the ultra-violet of the paracetamol 1000 mg drug belonging to the therapeutic class of analgesic. Based in this approach on the criteria of validation, which is specificity, accuracy, linearity, reproducibility and repeatability.

Our experimental results and statistical tests carried out shows for the validation method is linear in a defined range of concentration. The correlation coefficient ( $r$ ) of the regression equation was greater than 0.98. The accuracy of the method was demonstrated by the values of the variance coefficients below 2%. No interference of the excipients or degradation products of the pharmaceutical formulation of this medication have been observed. According to these results, the method is specific, linear, precise, exact, and reproducible and can be applied to the analysis of the paracetamol drug with an excellent recovery rate.

## **Key Word**

Paracetamol, analytical methods, specificity, accuracy, linearity, reproducibility, repeatability.

### الملخص

في مختبرات الأدوية، يعد التحقق من صحة الأساليب التحليلية قبل إطلاق دواء في السوق خطوة مهمة وضرورية لضمان جودة المنتج الذي سيتم إصداره للمرضى، وهو أمر مطلوب لإثبات أن طرق التحليل المستخدمة صالحة تمامًا وموثوق بها، والتحقق من الصحة هو معيار أساسي للتأمين على الجودة.

من خلال هذا العمل، أجرينا دراسة تحليلية حول مختلف التجارب الفيزيائية والكيميائية الحالية، للتحقق من جرعة الطريقة التحليلية بواسطة مقياس الطيف في الفئة الأشعة فوق البنفسجية من المخدرات الباراسيتامول 1000 ملغ التي تنتمي إلى الفئة العلاجية من المسكن، استنادًا إلى هذا النهج على معايير التحقق من الصحة وهو: الخصوصية والدقة والخطية والتكاثر والتكرار.

تظهر نتائجنا التجريبية والاختبارات الإحصائية التي أجريت أن طريقة التحقق من الصحة هي خطية في نطاق محدد من التركيز. كان معامل الارتباط ( $r$ ) لمعادلة الانحدار أكبر من 0.98. يتم توضيح دقة الطريقة من خلال قيم معاملات التباين أقل من 2%. لم يلاحظ أي تدخل في الأدوية أو منتجات تدهور الصيغة الصيدلانية لهذا الدواء. وفقًا لهذه النتائج، تكون الطريقة محددة، خطية، دقيقة، قابلة للتكرار ويمكن تطبيقها على تحليل دواء الباراسيتامول مع معدل استرداد ممتاز.

### الكلمات المفتاحية

الباراسيتامول، الطرق التحليلية، الخصوصية، الدقة، الخطية، التكاثر، التكرار

## Sommaire

Introduction :	1
Chapitre 01 : Parte bibliographique	4
<b>I.1 Généralité sur les médicaments</b>	4
I.1.1 Définition :	4
I.1.2 Les compositions :	4
I.1.3 Catégorie des médicaments :	5
I.1.4 Origine des médicaments :	5
I.1.5 Classification :	6
<b>I.2 Paracétamol</b>	7
I.2.1 Définition	7
I.2.2 Caractères du paracétamol :	8
I.2.2.1 Caractère structurale :	8
I.2.2.2 Caractère physico-chimique :	9
I.2.3 Effet indésirable	9
<b>II. Spectrophotomètre UV visible</b>	10
II.1 Définition :	10
II.2 Objectif :	10
II.3 Principe :	10
II.4 Appareillage :	11
II.5 La loi de Béer Lambert :	11
II.6 Les conditions de validation de la loi de Beer Lambert :	11
II.7 Applications :	12
<b>III. Généralité sur les méthodes de validation</b>	12
III.1 définition de validation :	12
III.2 But de validation	13
III.3 Les critères de la validation :	13
III.3.1 Spécificité :	14
III.3.2 Linéarité :	14
III.3.3 Exactitude :	14
III.3.4 Précision :	15
III.3.4.1 Reproductibilité :	15
III.3.4.2 La Répétabilité :	15
<b>IV Matériels et méthode :</b>	18
IV.1 Echantillonnage :	18
IV.2 Matériels utilisé :	18
IV.3 Produit et réactifs :	18

<b>IV.4</b>	<b>Préparation de solution :</b> .....	18
<b>IV.5</b>	<b>Protocole d'analyse à valider :</b> .....	19
<b>IV.5.1</b>	<b>Dosage du principe actif :</b> .....	19
<b>IV.5.2</b>	<b>Dosage de médicament :</b> .....	19
<b>IV.6</b>	<b>Méthode :</b> .....	19
<b>IV.6.1</b>	<b>Linéarité (Mode opératoire) :</b> .....	19
<b>IV.6.2</b>	<b>L'exactitude (Mode opératoire) :</b> .....	20
<b>IV.6.3</b>	<b>La spécificité :</b> .....	23
<b>IV.6.4</b>	<b>La reproductibilité :</b> .....	24
<b>V</b>	<b>Résultats et discussions :</b> .....	28
<b>V.1</b>	<b>Linéarité :</b> .....	28
<b>V.2</b>	<b>Répétabilité :</b> .....	32
<b>V.3</b>	<b>Reproductibilité :</b> .....	34
<b>V.4</b>	<b>Spécificité :</b> .....	36
<b>V.5</b>	<b>Exactitude :</b> .....	37
	<b>Conclusion :</b> .....	42
	<b>Références bibliographiques :</b> .....	44
	<b>Annexes :</b> .....	49

**Liste des figures :**

Figure 1: Structure de paracétamol .....	8
Figure 2: Les dérivés de paracétamol .....	8
Figure 3: Spectrophotomètre UV-Visible .....	10
Figure 4: Principe de spectrophotomètre .....	10
Figure 5: Paracétamol 1000 mg .....	18
Figure 6: Préparation d'une série des dilutions. ....	20
Figure 7: Les 3 séries de mesures (90 mg, et 100 mg, 110 mg) .....	22
Figure 8: Préparation de dilution de paracétamol seul.....	23
Figure 9: Préparation de dilution de paracétamol et tous les excipients.....	24
Figure 10: Préparation des dilutions de reproductible .....	25
Figure 11: Préparation de dilution de répétabilité.....	26
Figure 12: Droite de linéarité.....	28
Figure 13: Droit d'exactitude.....	38

Liste des tableaux

Tableau 1: Les origines des médicaments. ....	6
Tableau 2: Tableau 2 les séries des dilutions de Solution mère.. ....	20
Tableau 3: Résultats de mesure d’Absorbance et concentration d’une série de dilution.....	28
Tableau 4: Résultats de calcul de teneur en pourcentage.....	31
Tableau 5: Résultats de mesure de l’absorbance des 9 prises d’essai.....	32
Tableau 6: Résultats de calcul de teneur en pourcentage.....	32
Tableau 7: Reproductibilité.....	34
Tableau 8: Résultats des calculs. ....	34
Tableau 9: Spécificité. ....	36
Tableau 10: Résultats de mesure d’absorbance et concentration des 3 séries. ....	37
Tableau 11: Résultats d'exactitude.....	38
Tableau 12: Résultats de calcul de teneur des 03 séries. ....	39
Tableau 13: Résultats de calcul de la concentration de la solution mère et solution fille (série 01).....	39
Tableau 14: Résultats de calcul de la concentration de la solution mère et solution fille (série 02). ....	39
Tableau 15: Résultats de calcul de la concentration de la solution mère et solution fille (série 03).....	39

Liste des abréviations :

CV : Coefficient de Variation

ISO : International Organisation for Standardisation

M : Molarité

PA : Principe actif

R : Coefficient de corrélation

T% : Titre en pourcentage

UV : Ultraviolet

VIS : Visible

Var : Variance

ddl : Degré de liberté

C : Concentration

ET : Ecart- type



# **Introduction**

### **Introduction :**

Un médicament est une substance présentée comme possédant des propriétés curatives, préventives ou administrée en vue d'établir un diagnostic, qui sont consommés par des patients pour répondre à des objectifs thérapeutiques. Parmi les différents types des médicaments on trouve les antalgique, telle que le paracétamol qui indiqué dans le traitement symptomatique de la fièvre et des douleurs.

Il est généralement disponible en comprimé, et également disponible sous forme soluble (sachets, comprimé effervescents). Il est même décliné sous forme des préparations liquides pour les jeunes enfants (**DRIAD Y.1982**).

Les méthodes analytiques sont indispensables pour quantifier les médicaments et leurs métabolites dans les prélèvements biologiques. Pour pouvoir être utilisées, ces méthodes doivent être validées pour obtenir des résultats fiables. L'objectif de la validation est de produire des résultats fiables et reproductibles (**BRESSOLLE et al.; 2004**).

La validation est l'expression complète d'une séquence d'activités ayant pour but de démontrer et documenter qu'un médicament peut être fabriqué de façon fiable par des procédés déterminés, avec une qualité appropriée pour leur utilisation destinée. Les contrôles en cours de procédé et l'analyse à libération seuls ne sont pas suffisants pour assurer cette qualité. Par conséquent tous les facteurs qui pourraient affecter la qualité de produit doivent être correctement conçus et démontrés pour fonctionner efficacement. La validation est la preuve qu'un procédé fonctionne. Elle doit être effectuée en utilisant des principes scientifiques afin d'établir la capacité du procédé et de confirmer l'acceptabilité du médicament (**RAYNAUD; 2011**).

Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est aujourd'hui largement répondu dans tous les domaines d'activité où des mesures sont réalisées. Le champ d'application de la validation analytique s'étend à toute procédure d'analyse utilisée dans le contrôle de la matière première, le développement galénique, le contrôle en cours de fabrication, le contrôle des produits intermédiaires et finis et les essais de stabilité de tous les produits pharmaceutiques (**Bouklouze et Digua; 2006**).

Cette méthode de validation possède des critères sont :

- Linéarité
- Exactitude

- Spécificité
- Précision

Notre travail, a été entièrement réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de chimie analytique et environnement (Université Abbés Laghrour de Khenchela). Nous avons choisi comme échantillon le médicament paracétamol 1g. Ce travail se consacre à une étude de validation statistique d'une méthode de dosage spectrale du médicament paracétamol 1g.

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** : une synthèse bibliographique.

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

- Généralités sur les médicaments et paracétamol,
- Spectrophotométrie UV- Visible,
- Généralité sur la validation de la méthode de dosage d'un médicament.

- **Chapitre 2** : Matériel et méthodes utilisés.

- **Chapitre 3** : concerne les résultats obtenus.



# **Partie Bibliographique**

## Chapitre 01 : Parte bibliographique

### I.1 Généralité sur les médicaments

#### I.1.1 Définition :

On peut définir un médicament comme étant toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales.

Une seconde définition du médicament, appelée définition par fonction considère le médicament comme un produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animale en vue d'établir un diagnostic médicale ou restaurer, corriger ou modifier leurs fonction organiques (HAROUSSEAUX; 2011).

#### I.1.2 Les compositions :

Un médicament contient : le principe actif et les excipients

a) **Principe actif** : substance d'origine chimique ou naturelle qui agit contre une maladie, soit en le traitant, soit en limitant son aggravation (CLAIRE; 2020). Son dosage est établi en fonction de la puissance et l'âge du patient (AIMECHE et MEKERSI; 2019).

b) **Les excipients** :

a) Les excipients :

Les excipients ont donc plusieurs fonction comme :

- **Agrégeant**: excipients qui assurent la cohésion d'un mélange de poudres et permettent la réalisation de comprimés ;
- **Diluants ou véhicules** : phase continue qui permet la solution ou la dispersion des constituants du médicament dans un volume suffisant ;
- **Intermèdes** : substances permettant la réalisation physique du médicament ou assurant sa stabilité (par exemple, émulsionnant) ;
- **Colorants** : substances colorées servant de témoin d'homogénéité d'un mélange de poudres ou à identifier le médicament fini ;
- **Edulcorants ou correctifs** : modificateurs du goût permettant de rendre une préparation agréable ou de masquer le mauvais goût d'un principe actif ;
- **Conservateurs** : substances destinées à empêcher la dégradation chimique ou l'altération microbiologique d'un médicament (DANGOUMAU; 2006).

### **I.1.3 Catégorie des médicaments :**

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

- ❖ **Les spécialités pharmaceutiques** : qui sont les médicaments préparés à l'avance par l'industrie pharmaceutique sous une condition particulière, pour avoir délivrées aux patients.
- ❖ **Préparation magistrales** : les médicaments sont préparés extemporanément en pharmacie par le pharmacien ou le préparateur en pharmacie.
- ❖ **Préparation hospitalières ou officinales** : ce sont des préparations réalisées en série, d'avance, par des pharmacies hospitalières, appelées pharmacie à usage intérieure. Elles sont dispensées aux patients hospitalisés dans l'hôpital ou elles sont fabriquées (**HAROUSSEAUJ; 2011**).

Ces préparations et spécialités pharmaceutiques peuvent se présenter sous différentes formes pharmaceutique :

- ✓ Comprimé
- ✓ Solution buvable
- ✓ Solution injectable (**AIMECHE, MEKERSI; 2019**).

### **I.1.4 Origine des médicaments :**

Les origines des médicaments sont regroupées dans le tableau :

Tableau 1 : Les origines des médicaments (FENNI S.; 2020)

Origines	Définition	exemples
<b>Origine Végétale</b>	L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne. On utilise soit la plante entière ; soit les produits d'extraction qu'elles fournissent.	Morphine : extraite de la capsule du pavot à opium
<b>Origine Animale</b>	L'utilisation d'organes ou de glandes fraîches en thérapeutique est aussi ancienne que les plantes.	Hormones polypeptidiques extractives ; l'insuline
<b>Origine Microbiologiques</b>	Il s'agit essentiellement de : vaccins obtenus à partir de bactéries ou de virus.	Antibiotiques
<b>Origine synthétique Hémi- synthétique</b>	Principale source de production des médicaments modernes. Molécules complexes obtenues par des méthodes de synthèse de chimie organique.	Acide acétylé ; Salicylique ; certaines pénicillines
<b>Origine Minérale</b>	Ce sont souvent des produits minéraux naturels employés comme principes actifs ou excipients de médicaments.	Argiles ; Bicarbonate de sodium ; Sulfate de magnésium ; Calcium ; Fer
<b>Origine biogénétique</b>	Les méthodes de génie génétique sont les dernières venues parmi les méthodes d'obtention des médicaments : elles permettent de fabriquer par les cellules vivantes - procaryotes ou eucaryotes - des substances naturelles polypeptidiques présentant toutes les caractéristiques de leur modèle humain.	Hormones (hormone de croissance l'insuline)

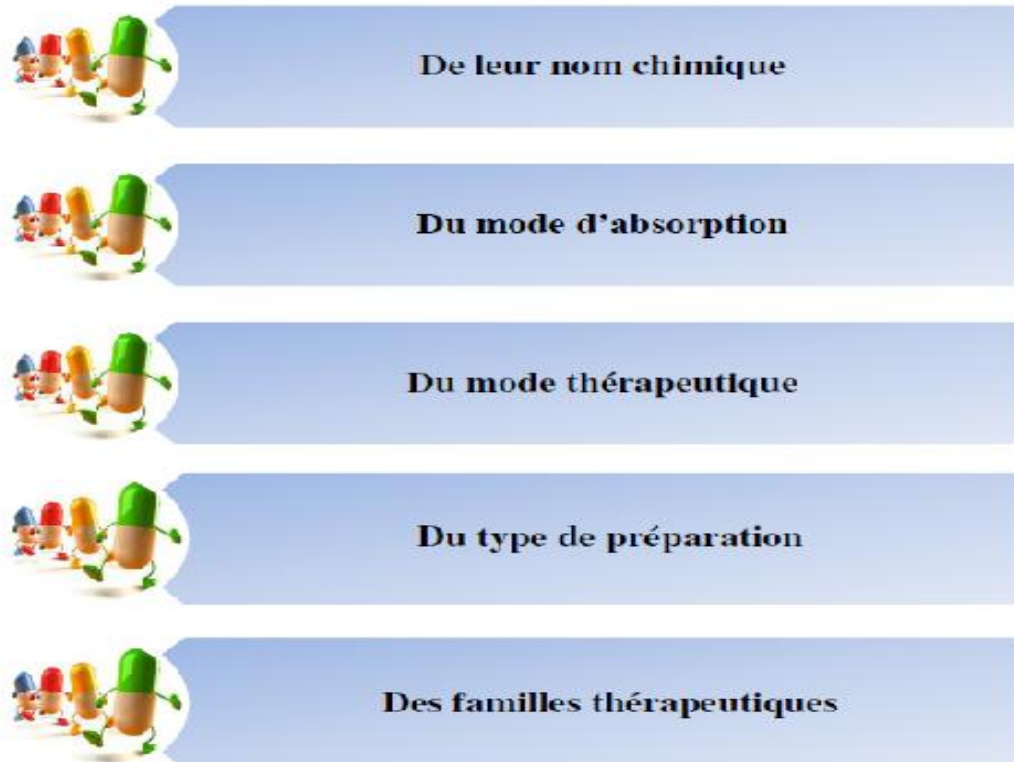
### I.1.5 Classification :

Un médicament est une substance présentée comme possédant des propriétés curatives, préventives ou administrée en vue d'établir un diagnostic. Il existe plusieurs types de nombreux médicaments (LAËTITIA; 2014). Chaque médicament est utilisé dans un but

précis et par des spécialités médicales différentes. Il est donc nécessaire de mettre en place des classifications.

La classification des médicaments est en fonction du type chimique de l'ingrédient actif ou de la manière dont il est utilisé pour traiter une condition particulière. Chaque médicament peut être classé dans une ou plusieurs classes thérapeutiques de médicaments (**Prouchandy; 2018**). Il y a de nombreuses façons de classer les médicaments.

Classement en fonction



## **I.2 Paracétamol**

### **I.2.1 Définition**

Le paracétamol est un des médicaments les plus consommés dans le monde que cela soit par automédication ou prescription, c'est la substance active de nombreuses spécialités médicamenteuses de la classe des antalgiques antipyrétiques non salicylés. Il est indiqué dans le traitement symptomatique de la fièvre et des douleurs d'intensité faible à modérée (**Barrière et al.: 2010**).

Le paracétamol agit directement au niveau du système nerveux central. Certaines études indiquent qu'il inhibe la production de prostaglandines, molécules qui interviennent dans le mécanisme de la sensation de douleur et de l'élévation de la température corporelle.

## I.2.2 Caractères du paracétamol :

### I.2.2.1 Caractère structurale :

La molécule du paracétamol est constituée d'un cycle benzénique, substitué par un groupement hydroxyle et par un groupement amide en position para.

La molécule N- acétyl-p-Amin phénol a donné deux noms « le paracétamol » (para-acétyl-amine-phénol) et « Acétaminophène » (N-acétyl-para-Amin phénol).

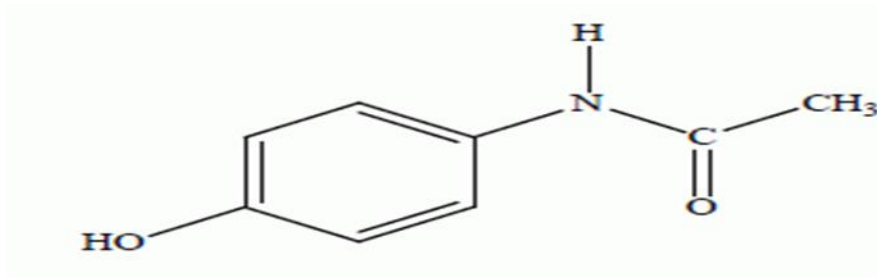


Figure 1: Structure de paracétamol

La formule brute du paracétamol est **C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>**.

Le paracétamol est un dérivé de l'acétanilide (N-phényléthanamide). Un groupement hydroxyle en position para le différencie de l'acétanilide.

La phénacétine est également synthétisé à partir de l'acétanilide, par ajout d'un groupement éthoxy (MICHAUT; 2015).

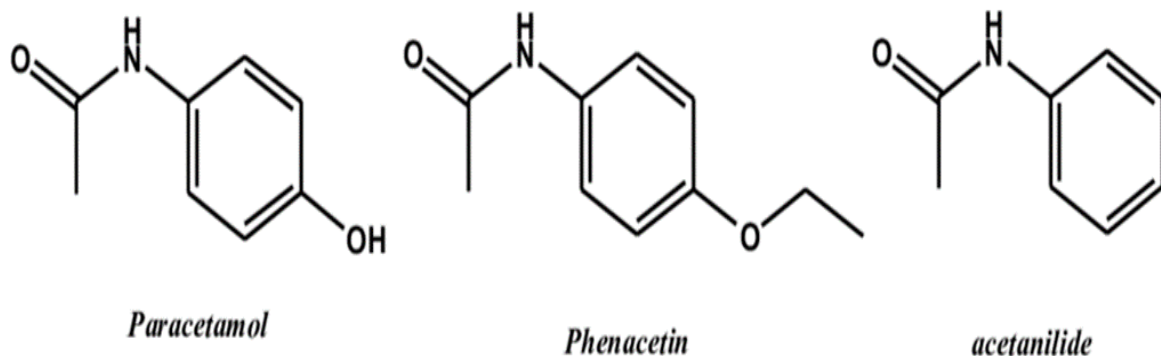


Figure 2: Les dérivés de paracétamol

### **I.2.2.2 Caractère physico-chimique :**

Le paracétamol est un acide organique faible ( $pka = 9,5$ ) très liposoluble, qui se présente sous forme de poudre cristalline, blanche, inodore et de saveur amère. Sa masse molaire est de 151,17 g/mol (AISSAT; 2010), Il absorbe dans l'UV avec un maximum d'absorption à la longueur d'onde de 244 nm. Son point de fusion à 168-172°C.

Le paracétamol est soluble dans l'eau froide, l'eau chaude, l'éthanol ; facilement soluble dans l'alcool ; très peu soluble dans éther et chloroforme (DRIAD; 2009).

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 (AIMECHE et MEKERSI; 2019).

### **I.2.3 Effet indésirable**

L'excellente tolérance des doses thérapeutique des paracétamols est un facteur majeur de la très large utilisation du médicament. Le problème majeure de l'utilisation du paracétamol est son hépato toxicité après un sur dosage. Des effets indésirables ont néanmoins été rapportés sans que l'imputabilité (le fait que l'effet indésirable soit bien causé par le médicament) ait été établie la plupart du temps. Les principaux EI retrouvés dans la littérature sont :

- **Très rarement** : éruption cutanée avec rash ou éruption urticarienne d'origine probablement allergique, thrombopénie et asthme.
- **Controversé** : hépatite aiguë cytolytique et insuffisance rénale chronique.
- **De façon ponctuelle** : hypotension, choc anaphylactique purpura vasculaire, ulcération rectale, pancréatite aiguë généralement en association avec d'autre médicament comme la codéine, hépatite chronique active et hépatite granulomateuse.

Une toxicité sur le foie à dose thérapeutique ne peut également être exclue chez Certaines personnes à risques.

Chez le très jeune enfant, l'administration de paracétamol pourrait augmenter le risque de survenue d'un asthme.

Devant l'apparition d'un effet indésirable, il est nécessaire d'arrêter le médicament incriminé et de consulter son médecin (HAMICHE, BOUSSEKINE; 2013).

## II. Spectrophotomètre UV visible

### II.1 Définition :

Un spectrophotomètre UV-visible est un appareil qui mesure l'absorbance d'une solution homogène pour une longueur d'onde donnée (ALINE; 2008). La spectrophotométrie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode physique non destructive dans les laboratoires d'analyses basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. Elle permet entre autres, d'identifier une substance chimique et de déterminer la concentration d'un soluté dans une solution, par l'interaction des électrons des molécules du soluté (OWEN; 2016).

### II.2 Objectif :

Elle vise à déterminer son absorption ou (transmittance) en fonction de sa concentration, et de déterminer ou prévoir la couleur de l'échantillon (HELOÏSE, GABRIEL; 1979).



Figure 3: Spectrophotomètre UV-Visible

### II.3 Principe :

Un spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée. Dans la pratique, l'appareil réalise une mesure de l'intensité de la lumière après son passage au travers d'une cuve contenant la solution à étudier. L'intensité de la lumière monochromatique émise ( $I_0$ ) est connue (CAMUT; 2009).

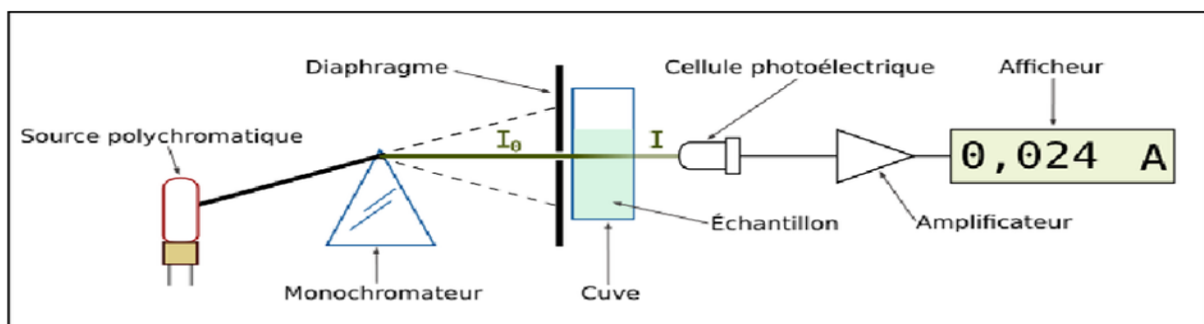


Figure 4: Principe de spectrophotomètre

## II.4 Appareillage :

Le spectrophotomètre permet la comparaison d'un faisceau lumineux avant et après passage dans un échantillon.

Un spectrophotomètre comporte :

- ❖ **Une source lumineuse.**
- ❖ **Un monochromateur** : il permet de sélectionner la longueur d'onde de la lumière qui traversera la solution à doser.
- ❖ **Une cuve transparente** : qui contient la solution à étudier. Suivant la qualité et la quantité d'échantillon, il existe différentes cuves, généralement en plastique ou en verre (spectre visible) ou en quartz (UV).
- ❖ **Un détecteur** : qui mesure l'intensité lumineuse après la traversée de la cuve.
- ❖ **La cellule photoélectrique** : permet la transformation de l'énergie lumineuse en énergie électrique, le courant produit est très faible et sera amplifié ultérieurement.
- ❖ **L'amplificateur** : un système électronique amplifie le courant fourni par la cellule photoélectrique (BERNARD et al.; 2012).

## II.5 La loi de Béer Lambert :

La relation de Beer-Lambert décrit que, à une longueur d'onde  $\lambda$  donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration, et à la longueur du trajet optique. Alors, pour une solution limpide contenant une seule substance absorbante  $A = \epsilon \cdot l \cdot c$  :

- **A**: est l'absorbance ou la densité optique (sans unité) de la solution pour une longueur d'onde  $\lambda$
- **c**: (en mol.ml<sup>-1</sup>) est la concentration de la substance absorbante
- **l**: (en cm) est la longueur du trajet optique
- **ε**: (en ml.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) est le coefficient d'extinction molaire de la substance absorbante en solution (BERBERAN-SANTOS; 1990).

## II.6 Les conditions de validation de la loi de Beer Lambert :

La loi de Beer Lambert est valable dans des conditions très précises :

- La solution doit être homogène dans les solutions hétérogènes, il existe des phénomènes de diffusion qui entraînent une baisse accélérée de l'intensité résultante.
- La loi de Beer-Lambert est valide pour les solutions de faibles concentrations. Ainsi, la solution doit être diluée si la concentration est très importante, la relation  $A = f(C)$  n'est plus linéaire. Il faut un monochromatisme très poussé pour éviter des

interférences de certaines substances, enfin pour deux substances en solution absorbant les photons à la même longueur d'onde, l'absorbance sera égale à la somme des absorbances, de chacune des substances.

**En résumé :**

- La lumière incidente doit être monochromatique,
- La solution doit être suffisamment diluée,
- La solution doit être homogène (pas de précipité, ni de gaz),
- Le soluté ne doit pas donner de réaction sous l'effet de la lumière.

## **II.7 Applications :**

La spectrophotométrie est utilisée dans beaucoup de domaines :

- ✓ **Domaine de la biochimie clinique**, Elle permet de réaliser des dosages biochimiques de nombreux paramètres sériques ou plasmiques (ex glucose, urée ...etc.) et des études de cinétique de réaction (détermination d'activité enzymatique).
- ✓ **Dans l'industrie pharmaceutique**, de nombreux tests de dissolution de médicaments sont réalisés par spectrophotométrie d'absorption UV-VIS.
- ✓ Elle est utilisée lors de la réalisation du test MTT (méthode rapide de numération des cellules vivantes).
- ✓ **En microbiologie**, la densité d'une culture bactérienne est estimée par sa turbidimétrie mesurée par l'absorbance d'un échantillon à 600 nm.
- ✓ **En biologie moléculaire**, Elle est utilisée lors de l'extraction d'ADN, pour quantifier l'ADN et déterminer sa pureté.

## **III. Généralité sur les méthodes de validation**

### **III.1 définition de validation :**

La validation analytique est la procédure par laquelle on démontre, preuve expérimentale à l'appui, que les performances de la méthode permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée. Elle est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères (**VIAL; 2006**).

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 (**ISO/IEC 17025; 2005**).

Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est largement répandu dans tous les domaines d'activités où des mesures sont réalisées. Le champ d'application de la validation analytique s'étend à toute procédure d'analyse utilisée dans le contrôle de la matière première, le développement galénique, le contrôle en cours de fabrication, le contrôle des produits intermédiaires et finis et les essais de stabilité de tous les produits pharmaceutiques. Dans le domaine pharmaceutique, son exigence est avant tout une pratique réglementaire (**THIAM; 2000**).

### **III.2 But de validation**

La validation analytique a pour but de rendre des résultats suffisamment fiables, garantir aux autorités compétentes ainsi qu'aux laboratoires d'analyse que chaque analyse réalisée ultérieurement une fois la procédure validée sera la plus exacte possible. Cela veut dire que l'écart entre la valeur calculée et la vraie valeur sera inférieure aux limites d'acceptation selon la procédure. Autrement dit, l'objectif de la validation est de démontrer que la procédure en question correspond à l'usage auquel elle est destinée (**HUBERT et al.; 2006**).

### **III.3 Les critères de la validation :**

La méthode de dosage par spectrophotomètre UV-Vis d'un médicament a été validée en étudiant successivement les paramètres suivants :

- **Spécificité**
- **Linéarité**
- **Exactitude**
- **Précision : Reproductibilité, Répétabilité**

### III.3.1 Spécificité :

Le premier critère pour évaluer une méthode analytique consiste à vérifier sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents. Cette capacité de distinguer l'analyse des autres composants a été désignée pendant plusieurs années par le nom de «sélectivité» ou selon les guidelines par «spécificité» d'une méthode (ROZET et al.; 2007).

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 ou plusieurs conditions sont testées pour faire apparaître des produits de dégradation (BEN AMARA; 2017).

### III.3.2 Linéarité :

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration en analyte dans l'échantillon. Cette proportionnalité s'exprime au travers d'une expression mathématique définie a priori. Le modèle étudié ici est un modèle linéaire d'équation  $Y=ax+b$ . (MARTINE et al.; 2003). L'intervalle de concentration 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'analyse. 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'étude est de 80 % et de 160 % de la teneur théorique du médicament. (AIMECHE et MEKERSI; 2019).

### III.3.3 Exactitude :

L'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur de concentration acceptée comme référence ou la valeur vraie et la valeur déterminée par la procédure analytique (MARTINE et al.; 2003).

Exactitude = erreur systématique (bais) d'une valeur obtenue / valeur considérée comme exacte.

L'exactitude de la méthode a été évaluée en utilisant trois niveaux de concentration (90 p. cent, 100 p. cent et 110 p. cent de la quantité théorique) pour chaque concentration trois mesure de la variable dépendante sont effectuées (**BOUKLOUZE et DIGUA; 2006**).

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 l'exactitude de la méthode pour chaque principe actif (**JOHN et al.; 2004**).

$$\text{Le taux de recouvrement } r = 100 * Ce/Ci$$

Avec :

Ce : Concentration du principe actif estimée par l'appareil,

Ci : Concentration du principe actif introduite exactement.

### **III.3.4 Précision :**

#### **III.3.4.1 Reproductibilité :**

La reproductibilité à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus pour le même échantillon soumis à l'essai dans des laboratoires différents et dans les conditions suivantes : analyste différent, appareil différent, même jour ou jour différent (**CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC; 2018**).

La reproductibilité à la différence de la répétabilité, La reproductibilité à la différence de la répétabilité, considère les conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essais identiques, dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents (**BENAYOUN et al.; 2009**).

#### **III.3.4.2 La Répétabilité :**

La Répétabilité est le critère justifiant de la précision de la méthode d'analyse. En effet, il est primordial de prouver qu'une analyse répétée dans les mêmes conditions donne un résultat identique (**LEFEBVRE; 2020**).

Elle se définit comme l'étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurant. Les mesurages étant effectués dans la totalité des mêmes conditions. Elle est estimée par les paramètres d'évaluation de la dispersion : ET (écart- type) et CV (coefficient de variation) (**vassaut et al.; 1999**).

Ces conditions expérimentales seront appelées conditions de répétabilité. La valeur de répétabilité  $r$  est la valeur en dessous de laquelle on peut estimer que se situe la différence absolue entre deux résultats d'analyse unique, obtenus dans les conditions de répétabilité définies ci-dessus, et ce, avec un niveau de confiance de 95 %.

L'écart type de répétabilité  $S_r$  est l'écart type des résultats obtenus dans les conditions de la répétabilité. C'est un paramètre de la dispersion des résultats, obtenu dans les conditions de la répétabilité (**Guide pratique pour la validation; 2005**).

A blue scroll-like banner with a light blue gradient and rounded corners. The banner has a vertical strip on the left side and a small circular tab on the right side, giving it the appearance of a rolled-up document. The text is centered within the banner.

# **Matériels et méthodes**

**IV Matériels et méthode :**

**IV.1 Echantillonnage :**

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

- PARACETAMOL (PA) .....1000 mg.
- Q.S. ....1 comprimé.



Figure 5: Paracétamol 1000 mg

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

**IV.2 Matériels utilisés :**

**1) Verreries usuelles**

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

**2) Appareillages**

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

**IV.3 Produit et réactifs :**

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

**IV.4 Préparation de solution :**

**a- Solution d'acide chlorhydrique 0.1M**

**a-1 Solution d'acide chlorhydrique 1M (solution mère) :**

Dans une 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

**IV.5 Protocole d'analyse à valider :**

**IV.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  $243 \pm 1$  nm contre un blanc (solution d'acide chlorhydrique 0,1M).

**IV.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  $243 \pm 1$  nm contre un blanc qui est la solution d'acide chlorhydrique 0,1M.

**IV.6 Méthode :**

**IV.6.1 Linéarité (Mode opératoire) :**

- On mesure 100 mg de standard de Paracétamol.
- Ajouter dans une fiole de 1000 ml.
- Compléter Avec environ 700 ml de la solution H Cl 0,1M.
- Agiter bien pour la dissolution.
- Amener au volume de un litre avec la solution H Cl 0,1M.

Réaliser une série de dilution selon le tableau suivant :

Tableau 2: Les séries des dilutions de Solution mère.

Solution mère (ml)	4	5	6	7	8
Solution HCL ajoutée 0,01 N	46	45	44	43	42

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

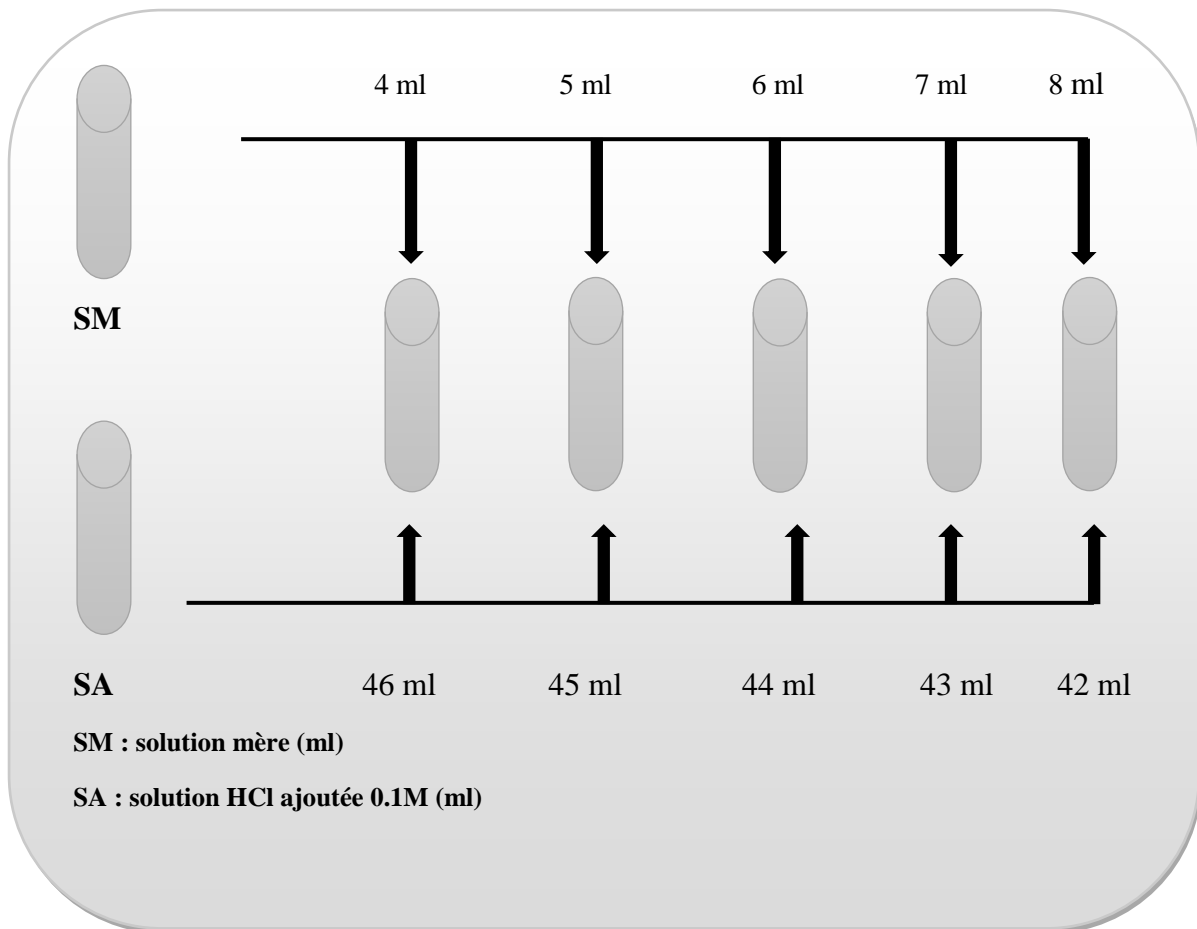


Figure 6: Préparation d'une série des dilutions.

#### IV.6.2 L'exactitude (Mode opératoire) :

L'exactitude permet de déterminer à quel point les mesures sont proches de la valeur attendue ou de référence.

La méthode de l'exactitude a été étudiée sur 3 séries :

La quantité théorique est : (90 p. cent ; 100 p. cent et 110 p. cent)

**1. 1<sup>ère</sup> série (90 p. cent) :**

- On mesure 90 mg de comprimé de paracétamol et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- Agiter bien pour la 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.

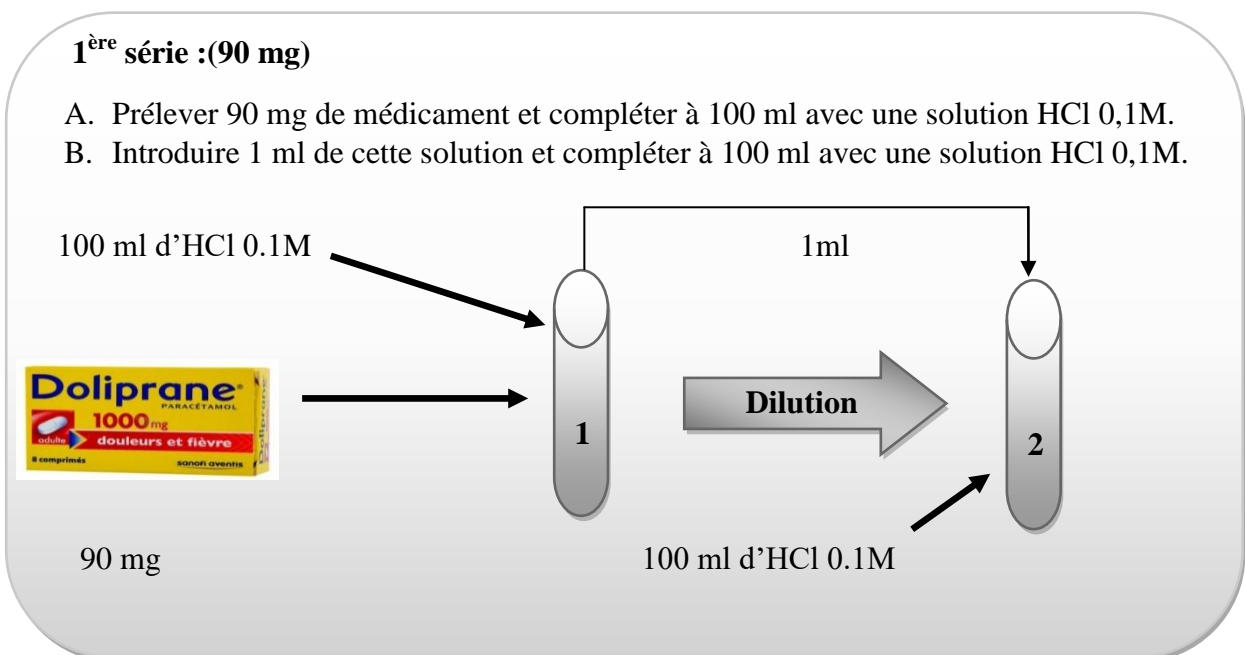
**2. 2<sup>ème</sup> série (100 p. cent)**

- On pèse 100 mg de comprimé et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- Agiter bien pour la dissolution de médicament.
- 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).

**3. 3<sup>ème</sup> série (110 p. cent)**

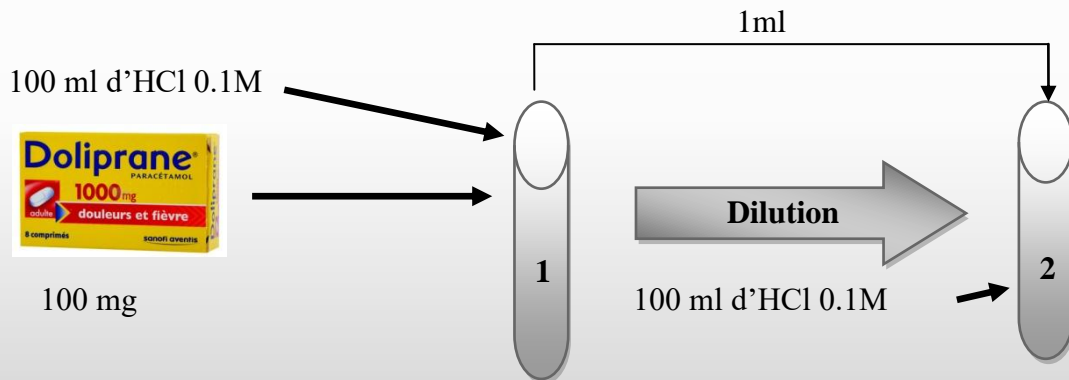
- On pèse 110 mg de comprimé et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- Agiter très bien pour la dissolution le médicament.
- Introduire 1 ml de cette solution dans une deuxième fiole de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution HCl 0,1M. (Effectuer 3 répétitions).

➤ A la fin on noter les absorbances par effectuer la lecture des solutions au spectre photomètre à  $243 \pm 1$  nm.



➤ 2<sup>ème</sup> série : 100mg

- Prélever 100 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.



3<sup>ème</sup> série (110 mg) :

- Peser 110 mg de médicament et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1 M.
- Introduire 1 ml de cette solution et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

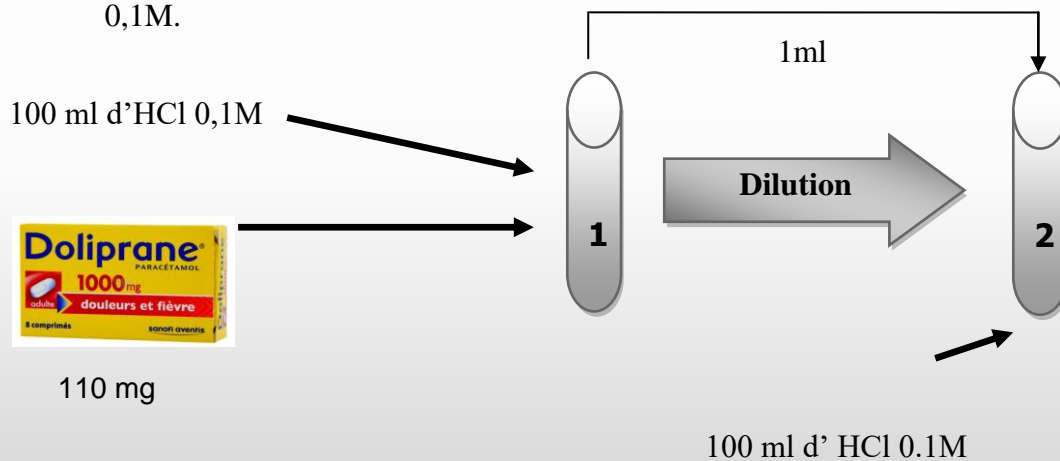


Figure 7: Les 3 séries de mesures (90 mg, et 100 mg, 110 mg)

### IV.6.3 La spécificité :

#### Mode opératoire

La spécificité de la méthode a été appréciée en étudiant la méthode de reconstitution avec du paracétamol seul, Par rapport aux reconstitués contenant du paracétamol et tous les excipients, traités de la même manière.

#### ➤ Paracétamol seul :

- Dans une fiole de 100 ml, transférer 100 mg de l'étalon Paracétamol avec environ 70 ml de la solution HCl 0,1M.
- Agiter bien jusqu'à la dissolution et amener au volume avec HCl 01M
- Effectuer 3 répétitions.
- Effectuer la lecture des solutions au spectre photomètre à  $243 \pm 1$  nm. Noter bien les absorbances.

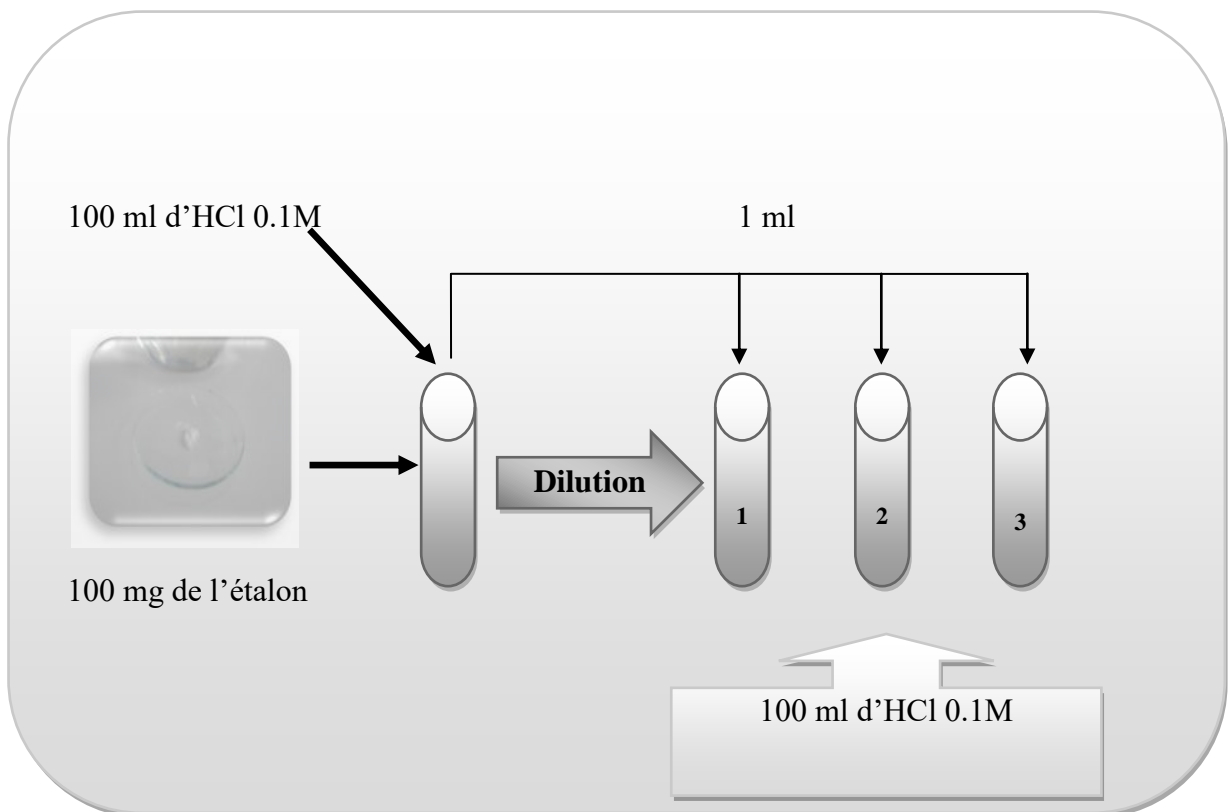


Figure 8 : Préparation de dilution de paracétamol seul

#### ➤ Paracétamol et tous les excipients :

- Dans une fiole de 100 ml, transférer 100 mg de médicament avec environ 70 ml de la solution HCl 0,1M.

- Agiter très bien jusqu'à la dissolution et amener au volume avec HCl 0,1M.
- Dans une deuxième fiole de 100 ml, 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  $243 \pm 1$  nm. Noter bien les absorbances.

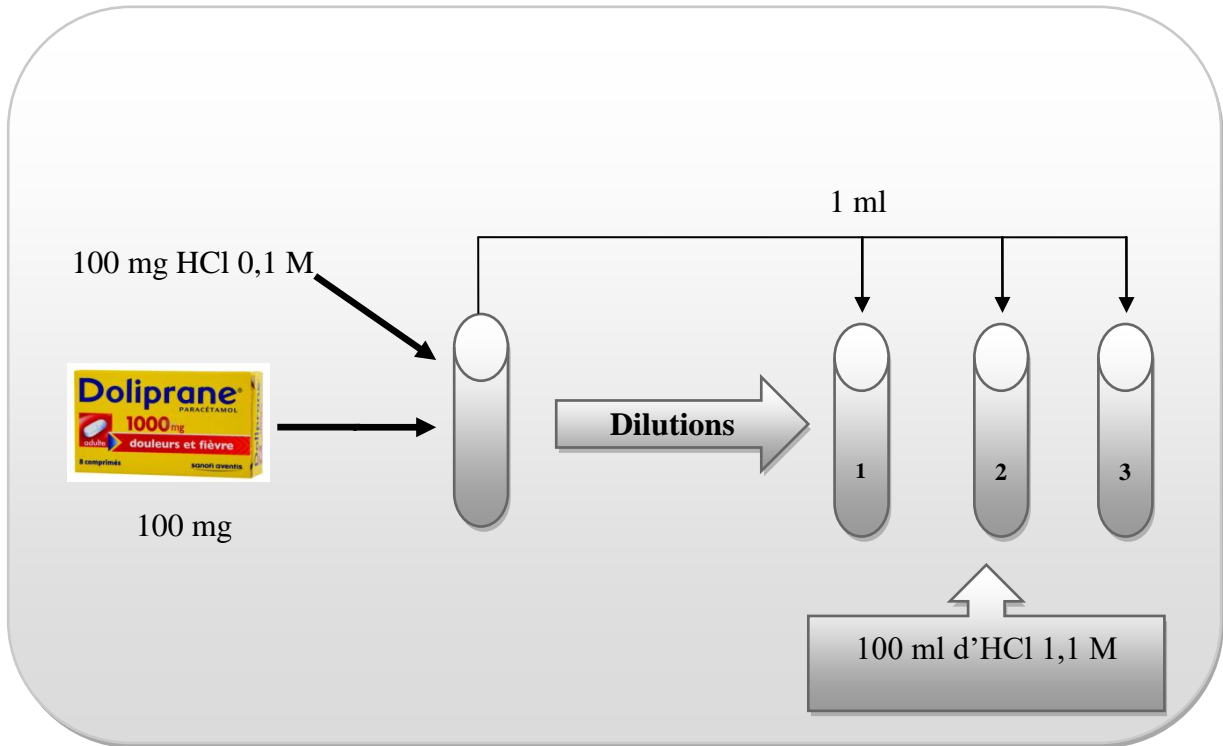


Figure 9 : Préparation de dilution de paracétamol et tous les excipients

#### **IV.6.4 La reproductibilité :**

Mode opératoire :

L'étude a été menée sur 6 doses test différentes, soit environ 110,752 mg (Quantité théorique) du médicament :

- 1) Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 110.4 mg de médicament et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- 2) Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 110.52 mg de médicament et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- 3) Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 110.6 mg de médicament et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- 4) Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 110.72 mg de médicament et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- 5) Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 110.9 mg de médicament et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

- 6) Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 110.00 mg de médicament et compléter à 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  $243 \pm 1$  nm. Noter bien les absorbances.

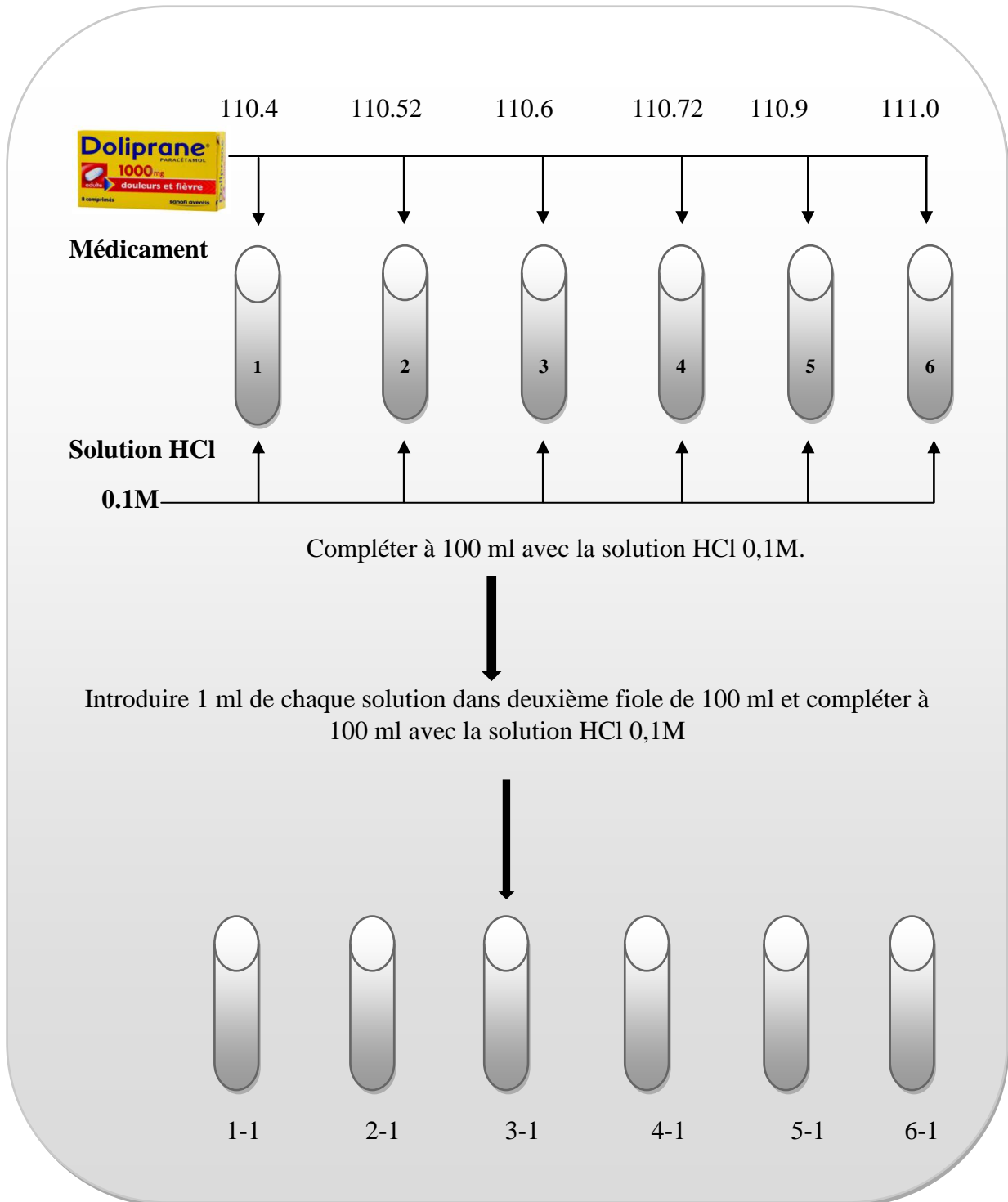


Figure 10: Préparation des dilutions de reproductible

### III.3.4.2 La répétabilité

L'étude a été menée sur le même échantillon test de 100 mg de poudre de noyau non enrobé provenant du même lot test de comprimés de 1000 mg de paracétamol (correspondant à la formulation indiquée). L'échantillon a été traité dans les conditions opératoires de la méthode.

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

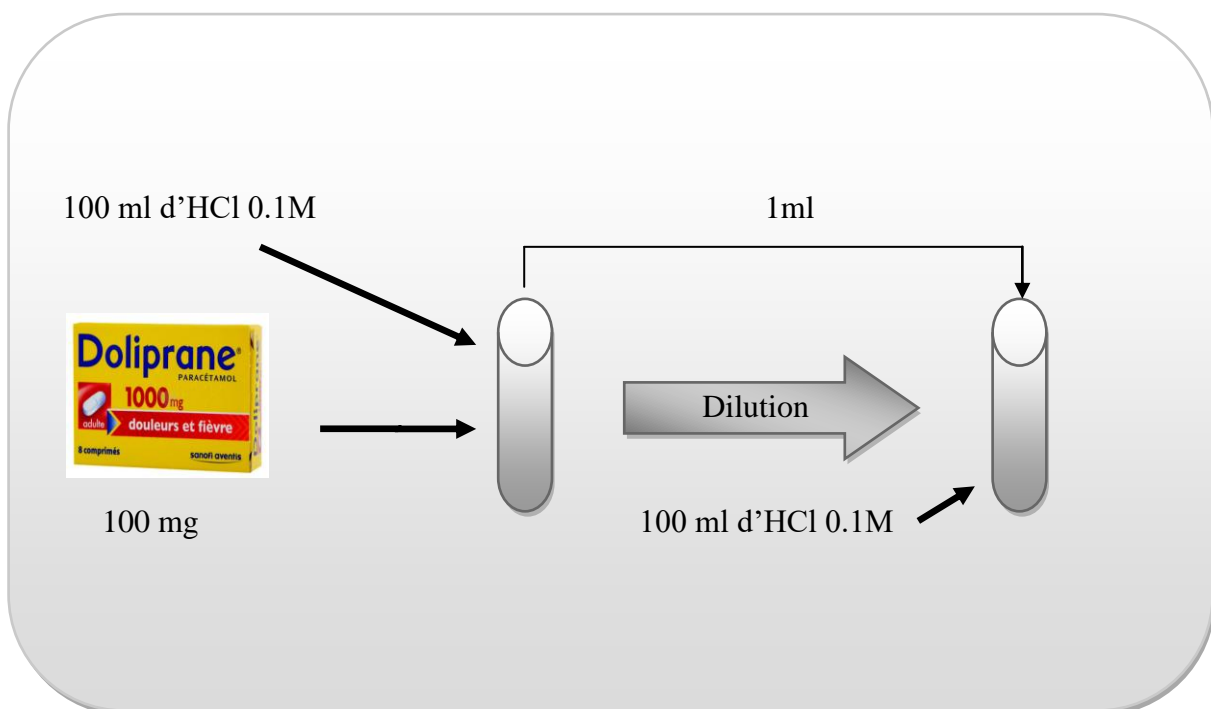


Figure 11: Préparation de dilution de répétabilité

# **Résultats et Discision**

V Résultats et discussions :

V.1 Linéarité :

Tableau 3: Résultats de mesure d’Absorbance et concentration 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	0,575	0,678	0.803	0.915	1,04
Concentration Solution fille (mg/ml)	0,008	0,01	0,012	0,014	0,016

❖ La droite d’étalonnage :

Régression linéaire de les absorbances obtenue en fonction de la concentration se traduit par une ligne droite passant sensiblement par l'origine, avec l'équation :  $y = 0,0171x - 0,0017$ .

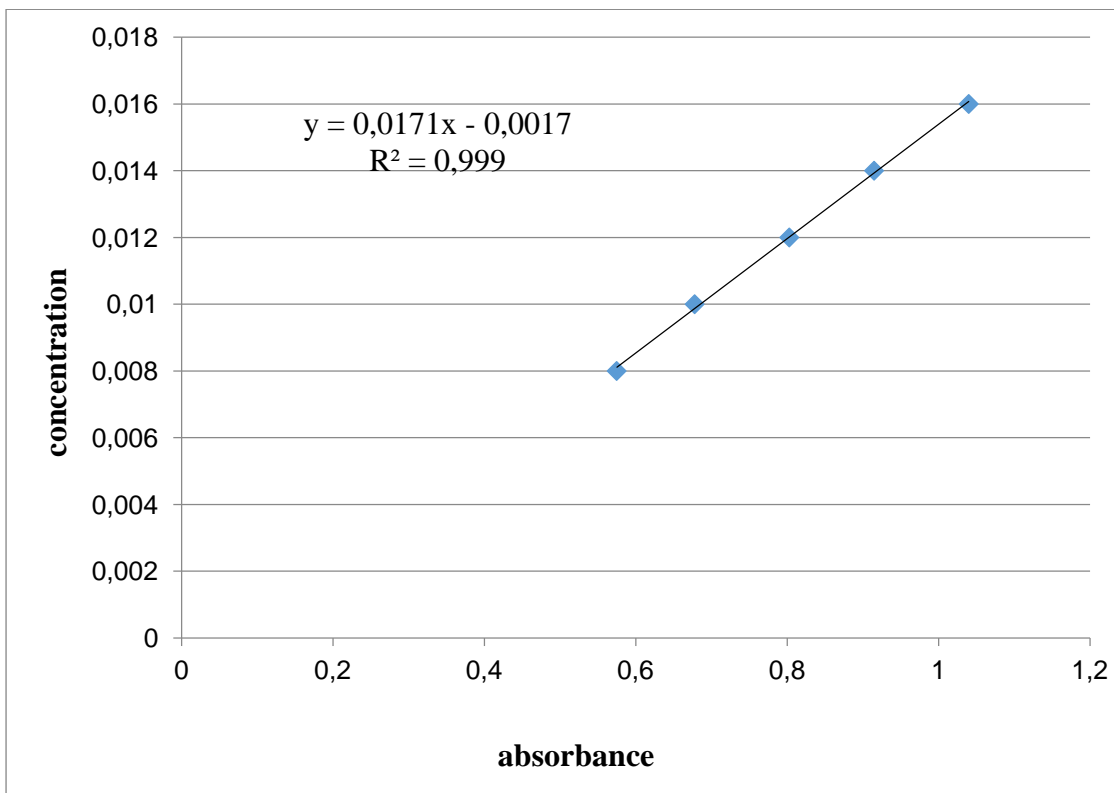


Figure 12: Droite de linéarité

❖ Analyse statistique :

	X	Y	XY	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>
	0,575	0.008	0,0046	0,330625	0,000064
	0,678	0,01	0.0068	0.459684	0,0001
	0,803	0,012	0,0096	0.644809	0,000144
	0,915	0,014	0,013	0.837225	0,000196
	1,04	0,016	0,017	1,0816	0,000256
<b>Moyenne</b>	<b>0,802</b>	<b>0,012</b>	<b>0.0102</b>	<b>0.6707886</b>	<b>0,000152</b>

1. Le coefficient de corrélation (r) :

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

X : Valeur d'absorbance.

Y : Valeur de concentration.

$\bar{X}^2$  : Moyenne d'absorbance.

$\bar{Y}^2$  : Moyenne de concentration.

On trouve : **r=0.9995**

Le coefficient de détermination **R<sup>2</sup>=0,999**

2. Test de linéarité :

a= 0,0171                      b= -0,0017                      R<sup>2</sup>= 0,999

b= -0,0017 :l'ordonnée à l' origine n'est pas significativement différent de zéro.

3. La variance :

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

$$\text{Var} = \frac{1}{4} (0,136319) = \mathbf{0.034}$$

4. L'écart type :

$$\Delta = \sqrt{\text{Var}(x)} = \mathbf{0.185}$$

### 5. Moyenne de teneur :

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

100% —————> C théorique

T% —————> C réelle

$$T\% = \frac{C_{réelle}}{C_{théorique}} \times 100$$

D'après la loi de Beer-Lambert :

$$A_{réelle} = \epsilon \cdot L \cdot C_{réelle} \quad (1)$$

$$A_{témoin} = \epsilon \cdot L \cdot C_{témoin} \quad (2)$$

$$\frac{(1) A_{essai}}{(2) A_{témoin}} = \frac{C_{réelle}}{C_{témoin}}$$

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

En faisant les remplacements nécessaires, on calcule

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

$$\text{Avec : } C_{théorique} = \frac{100}{100} \times \frac{1}{100} \text{ et } C_{témoin} = \frac{100}{100} \times \frac{1}{100} = \frac{P_{témoin}}{100} \times \frac{1}{100}$$

$$\text{Donc : } T\% = \frac{\frac{P_{témoin}}{100} \times \frac{1}{100} \times \frac{A_{essai}}{A_{témoin}}}{\frac{100}{100} \times \frac{1}{100}} \times 100$$

On a : 1000 mg(Pa) —————> Pm (poudre)

100 mg —————> P essai (poudre)

$$\longrightarrow T\% = \frac{\frac{P_{témoin}}{100} \times \frac{1}{100} \times \frac{A_{essai}}{A_{témoin}}}{\frac{P_{essai} \times \frac{1000}{P_m} \times \frac{1}{100} \times \frac{1}{100}}}} \times 100$$

$$T\% = \frac{A_{essai}}{A_{témoin}} \times \frac{P_{témoin}}{P_{essai}} \times \frac{P_m}{1000} \times 100,$$

Où :

$A_{essai}$  : Absorbance obtenue pour la solution fille lors de l'étude de linéarité.

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

$P_{témoin}$  : Prise de standard.

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

$P_m$  : Poids moyen des 5 comprimés.

Avec : A témoin= 0,727, P témoin=100 mg, P<sub>essai</sub> =110,752 mg et P<sub>m</sub>=1114,3 mg

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

Calcul de T % :

$$T \% = \frac{0,575}{0,727} \times \frac{100}{110,752} \times \frac{1114,3}{1000} \times 100 = 80\%$$

Tableau 4 : Résultats de calcul de teneur en pourcentage.

Absorbance	T %
0,575	80%
0,678	93.83%
0,803	111,13%
0,915	126.63%
1,04	143.93%

### 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

$$t_{\text{exp}} = \frac{|m - \bar{X}|}{\Delta}$$

m :est le 1<sup>er</sup> valeur d'absorbance.

$\bar{X}$  : est la valeur moyenne obtenue.

$\Delta$  :est l'écart type.

$$t_{\text{exp}} = \frac{|0,575 - 0,802|}{0,185} = 1.227$$

On a : (n = 5) / (ddl<sub>n-1</sub> = 4) / (α = 0,05)

Donc : t<sub>tab</sub> = 2.132

On obtient ainsi : **t<sub>exp</sub> < t<sub>tab</sub>**

### 7. Intervalle de confiance (IC) :

$$IC = (M - t_{\text{tab}} \times \frac{\Delta}{\sqrt{n-1}} ; M + t_{\text{tab}} \times \frac{\Delta}{\sqrt{n-1}}) = 111,10 \pm 0.20$$

M : Moyenne de teneurs T(%) =111.10%

**Conclusion :**

- Ces résultats indiquent que la méthode est linéaire et que la droite passe statistiquement par zéro et elle est affectée d'un coefficient de détermination très satisfaisant ( $R^2 = 0,999$ ).
- On considère que la méthode est linéaire car on trouve une valeur de  $t_{exp}$  inférieure à  $t_{tab}$  pour un risque choisi de 0,05%.

**V.2 Répétabilité :**

Tableau 5: 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	0.607	0,611	0,608	0,607	0,607	0,611	0,608	0,609	0,608
<b>Moyenne d'absorbance (<math>\bar{X}</math>) :0,6084</b>									

**1-La variance :**

$$\text{Var} = \frac{1}{n-1} \sum (X - \bar{X})^2 = \frac{1}{8} (0.00002022) = 2.53 * 10^{-6}$$

**2- L'écart type :**  $\Delta = \sqrt{\text{Var}(x)} = 0.0016$

**3- Moyenne de la teneur T(%) :**

$$T\% = \frac{A \text{ essai}}{A \text{ témoin}} \times \frac{P \text{ témoin}}{P \text{ essai}} \times \frac{Pm}{1000} \times 100$$

$$T\% = \frac{0,607}{0,727} \times \frac{100}{110,752} \times \frac{1114,3}{1000} \times 100 = 84.00\%$$

Tableau 6: Résultats de calcul de teneur en pourcentage.

Essai n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
T %	84,00 %	84,56 %	84,14 %	84,00 %	84,00 %	84,56 %	84,14 %	84,28 %	84,14 %
<b>Moyenne de la teneur T(%) = 84,20%</b>									

**4- Le coefficient de variation :**

$$CV = \frac{\Delta}{\bar{X}} \times 100$$

$$CV = \frac{0.0016}{0,6084} \times 100 = \mathbf{0.263 \%}$$

**5- Intervalle de confiance :**

On a: (n = 9); (ddl<sub>(n-1)</sub> = 8); (α = 0.05); **T<sub>tab</sub> = 1,86**

$$IC = \left( M - t_{tab} \times \frac{\Delta}{\sqrt{n-1}} ; M + t_{tab} \times \frac{\Delta}{\sqrt{n-1}} \right)$$

$$IC = 84.20 \pm 0.0010$$

**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.

**V.3 Reproductibilité :**

Les résultats des mesures d'absorption des 6 tubs d'essai dans le tableau suivant :

Tableau 7: Reproductibilité.

	1	2	3	4	5	6
<b>La mass (mg)</b>	110,04	110,5	110,6	110,7	110,9	111
<b>Concentration (mg/ml)</b>	0.01104	0.01105	0.01106	0.01107	0.01109	0.0111
<b>Absorbance moyenne</b>	0.621	0.622	0.623	0.626	0.627	0.629

- **Analyse statistique :**

Les résultats de calcul de la masse et la concentration théorique et la concentration réelle.

Tableau 8: Résultats des calculs.

<b>La mass (mg)</b>	<b>Absorbance</b>	<b>Concentration S. mère (mg/ml)</b>	<b>C théorique (mg/ml)</b>	<b>C réelle (mg/ml)</b>	<b>T%</b>
<b>110,4</b>	0,621	1,104	0.01104	0,00943	95,18
<b>110,5</b>	0,622	1,105	0.01105	0,00945	95,34
<b>110,6</b>	0,623	1,106	0.01106	0,00948	95,49
<b>110,7</b>	0,626	1,107	0.01107	0,00953	95,95
<b>110,9</b>	0,627	1,109	0.01109	0,00956	96,10
<b>111</b>	0,629	1,11	0.0111	0,00960	96,41

**1-Le coefficient de corrélation (r) :**

$$r = \frac{\overline{X Y} - \overline{X} \overline{Y}}{\sqrt{(\overline{X^2} - (\overline{X})^2)(\overline{Y^2} - (\overline{Y})^2)}} = 0.98029$$

X : Valeur d'absorbance.

Y : Valeur de concentration.

$\bar{X}$  : Moyenne d'absorbance.

$\bar{Y}$  : Moyenne de concentration.

**2-La variance :**

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

$$\text{Var} = \frac{1}{5} (0.000048) = 9,6 * 10^{-6}$$

**3-L'écart type :**

$$\Delta = \sqrt{\text{VAR} (X)} = 0,0031$$

**4-Moyenne de teneur :**

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

$$T\% = \frac{A \text{ essai}}{A \text{ témoin}} * \frac{P \text{ témoin}}{P \text{ essai}} * \frac{P m}{1000} * 100$$

**Moyenne de teneur T (%) = 95,75 %.**

**5-Le coefficient de variation :**

$$CV = \frac{\text{écart type}}{\text{Moyenne de série } \bar{X}} * 100 = \frac{0,0031}{0,625} * 100 = 0,496 \%$$

**6-Intervalle de confiance :**

(n=6), ( $\alpha= 0,05$ ), ( $ddl_{(n-1)}$  ; n= 5), ; **t<sub>tab</sub> = 2,015**

$$IC = ( M - T_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n-1}} ; M + T_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n-1}} ) :$$

$$IC = 95,75 \pm 0,0025$$

**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.

**V.4 Spécificité :**

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

Tableau 9: Spécificité.

C réelle (mg/ml)	C théorique (mg/ml)	Absorbance (PA seul)	Absorbance (PA seule + excipients)	Tenure-en %
0,00952	0,01	0,692	0,606	92,88
0,00950	0,01	0,691	0,603	92,42
000953	0,01	0,693	0,609	93,34

• **Analyse statistique :**

Les dosages sont exprimés en %, ont été déterminées à partir de l'expression :

$$T\% = \frac{A \text{ essai}}{A \text{ témoin}} * \frac{P \text{ témoin}}{P \text{ essai}} * \frac{Pm}{1000} * 100$$

**Moyenne de teneur trouvée : (T%) =92,88 %.**

**1- La moyenne :**

$$m = \frac{\sum Xi}{n} = \frac{2,255}{3} = 0.692$$

**2- La variance :**

$$VAR = \frac{1}{n-1} \sum (X^2 - \bar{X}^2) = \frac{1}{2} \sum (2 * 10^{-6}) = 1 * 10^{-6}$$

**3- L'écart type :**

$$\Delta = \sqrt{VAR(X)} = 0,001$$

**4- Le coefficient de variation :**

$$CV = \frac{\text{écart type}}{\text{Moyenne de série } m} * 100 = \frac{0.001}{0.692} * 100 = 0.145\%$$

**5- Intervalle de confiance :**

Avec : (n=3), ( $\alpha = 0.05$ ), ( $ddl_{(n-1)} = 2$ ), ( $t_{tab} = 2,92$ ).

On trouve : IC =  $92,88 \pm 0,0021$

**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.

**V.5 Exactitude :**

Tableau 10 : Résultats de mesure d'absorbance et concentration des 3 séries.

Série	Série 01 (90mg)	Série 02 (100 mg)	Série 03 (110mg)
Masse	m= 90 mg	m= 100 mg	m= 110 mg
Absorbance	0.528	0.597	0.643
	0.532	0.593	0.648
	0.532	0.592	0.640
C théorique (mg/ ml)	0.009	0.01	0.011
C réelle (mg/ml)	0.0066	0.0082	0.0097

- La droite d'étalonnage**

Une régression linéaire effectuée sur les absorbances obtenues en fonction des concentrations aboutie à une droite d'équation :  $y = 0,0273x - 0,008$

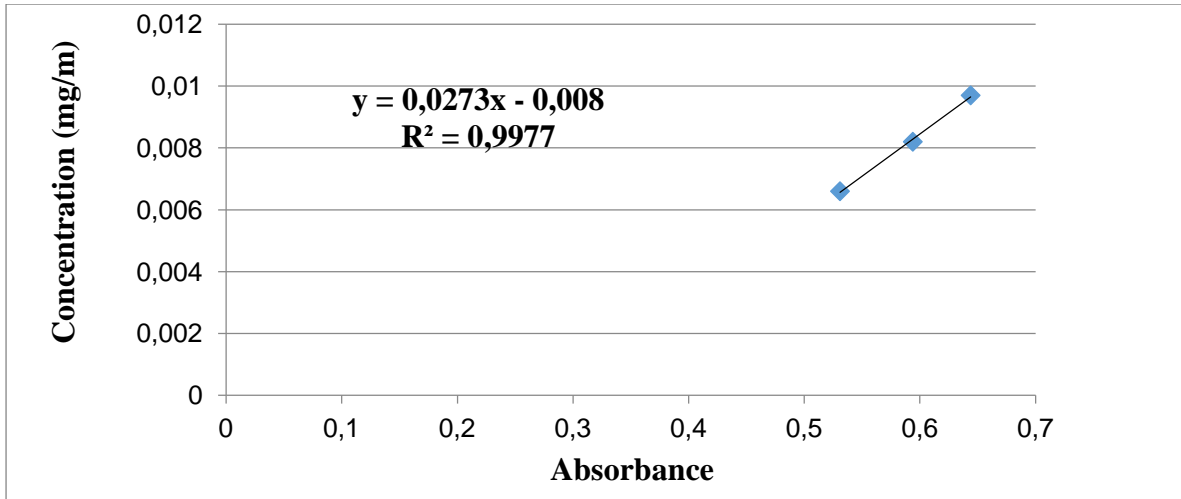


Figure 13: Droit d'exactitude

- **Analyse statistique**

- 1- **Le coefficient de corrélation (r) :**

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

**X** : valeur d'absorbance

**Y** : valeur de concentration

$\bar{X}$  : Moyenne d'absorbance

$\bar{Y}$  : Moyenne de concentration

On trouve : **r = 0,9988**

- Les résultats sont regroupés dans ce tableau :

Tableau 11: résultats d'exactitude.

Série	Absorbance	Variance	Ecart type	Intervalle de confiance	Coefficient de variation (%)	Moyenne de la teneur(%)
Série 1	0.531	$5.5 \cdot 10^{-6}$	0.00234	$90,37 \pm 0.013$	0.441	90,37
Série 2	0.594	$7 \cdot 10^{-6}$	0.00265	$91.04 \pm 0.015$	0.446	91.04
Série 3	0.644	$1.65 \cdot 10^{-5}$	0.00406	$89.69 \pm 0.023$	0.640	89.69

**2- Moyenne de la teneur :**

Tableau 12: Résulta de calcul de teneur des 03 séries.

série	Teneur (T%)		
Série 01	89,92	90,60	90,60
Série 02	91,50	90,89	90,74
Série 03	89,60	90,29	89,18

Tableau 13: Résulta de calcul de la concentration de la solution mère et solution fille (série 01).

Masse principe actif (mg)	C.S. mère (mg/ml)	C.S. fille (mg/ml)
<b>90</b>	0.9	0.009
<b>90</b>	0.9	0.009
<b>90</b>	0.9	0.009

Tableau 14: Résultats de calcul de la concentration de la solution mère et solution fille (série 02).

Masse principe actif (mg)	C.S. mère (mg/ml)	C.S. fille (mg/ml)
<b>100</b>	0.1	0.001
<b>100</b>	0.1	0.001
<b>100</b>	0.1	0.001

Tableau 15: Résultats de calcul de la concentration de la solution mère et solution fille (série 3).

Masse principe actif (mg)	C.S. mère (mg/ml)	C.S. fille (mg/ml)
<b>110</b>	1.1	0.011
<b>110</b>	1.1	0.011
<b>110</b>	1.1	0.011

### Conclusion :

- Ces résultats indiquent que la méthode est exacte et affectée d'un coefficient de corrélation très satisfaisant ( $R^2 = 0.9977$ ).
- La valeur du coefficient de variation et la variance et l'écart type et la moyenne des teneurs sont excellents et très proche dont la méthode de dosage proposé considérée comme exacte.

- En définitif, la méthode proposée est spécifique, linéaire, exacte, reproductible et répétable. Ses performances sont compatibles avec des limites d'acceptation de  $\pm 10\%$  de la teneur théorique en paracétamol 1000mg dans le produit fini.



# **Conclusion**

**Conclusion :**

Le dosage par spectrophotométrie est une méthode de dosage largement utilisée en pharmacopée et dans l'industrie pharmaceutique. Il s'agit d'une méthode de détermination de la concentration d'une substance chimique dans une solution en mesurant l'intensité d'absorption ou d'émission de rayonnement électromagnétique par la substance testée (paracétamol).

La validation est fondée sur une analyse statistique des méthodes analytiques, basée sur un certain nombre de critères (spécificité, l'exactitude, la linéarité, la reproductibilité, la répétabilité), aboutissant à une assurance de donner des résultats fiables. En conséquence, elle a pour but de démontrer que les techniques correspondent à l'utilisation pour laquelle elles sont proposées. 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.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'analyse et à la validation d'une méthode de dosage spectrale du médicament paracétamol 1g.

D'après les résultats obtenus au cours des tests de la validation, on peut conclure que la méthode est validée, spécifique, exacte, précise, linéaire et reproductible.

A blue horizontal scroll graphic with rounded ends and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

# **Références bibliographiques**

### Références bibliographiques :

- ✚ **AIMECHE Y., MEKERSI M.; 2019.** Etude de validation statistique d'une méthode de dosage spectrale du médicament paracétamol 500. Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master en chimie option : chimie analytique et environnement. Khenchela : Université Abbès Laghrour –Khenchela-. P: 10-21.
- ✚ **AISSAT S.; 2010.** Mesure de l'impact toxique du paracétamol à doses thérapeutiques chez 11 alcooliques adultes volontaires à travers le dosage des taux de quelques marqueurs hépatiques, et évaluation du danger encouru par deux présumés intoxiqués par ce médicament. UMMTO D.E.S en Biochimie.
- ✚ **Barrière D. et al.; 2010.** Le paracétamol, de nouvelles cibles pour un vieux médicament. La lettre, de l'Institut UPSA de la Douleur. N°33. P: 1-7
- ✚ **BEN AMARA N.; 2017.** Etude de validation d'une méthode de dosage spectral du médicament Bromhénine chlorhydrate. Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie option: Biochimie appliquée. Khenchela: Université Abbès Laghrour –Khenchela-. P: 6–19.
- ✚ **BENAYOUNC. et al.; 2009.** Acceptabilité et expression des résultats expérimentaux. Biochimie – Génie biologique. Validation IGEN. P: 1-10.
- ✚ **Berberan-Santos M. N.; 1990.** Beer's law revisited. American Chemical Society and Division of Chemical Education, Inc. Vol 67. P: 757-759
- ✚ **BERNARD A. et al.; 2012.** Introduction à la spectroscopie UV-Visible. Techniques expérimentales en Chimie. P: 01-03.
- ✚ **BOUKLOUZE A., DIGUA K.; 2006.** Démarche statistique de la validation analytique dans le domaine pharmaceutique. Les technologies de laboratoire. N° 1. P: 20-24.
- ✚ **BRESSOLLE1 F. et al.; 2004.** Stratégie de validation de méthodes de dosage en bio analyse en vue d'études pharmacocinétiques et toxicologiques article de Annales de Toxicologie Analytique.
- ✚ **CAMUT A.; 2009.** Mise en place du contrôle terminal des préparations d'anticancéreux injectables par spectrométrie UV-visible-IRTF, Multi spect ® à l'Unité de Pharmacie Clinique et Cancérologique de l'Hôpital Bon Secours de Metz : Aspects analytiques et organisationnels: thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. P: 20. <http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>
- ✚ **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC; 2018.** Protocole pour la validation et la vérification d'une méthode d'analyse en

microbiologie (DR-12-VMM), Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques. P: 17.

- ✚ **CLAIRE V.; 2020.** De la molécule au médicament. Culture sciences chimie. <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-organique/chimie-pharmaceutique/de-la-molecule-au-medicament>
- ✚ **CLHP/UV BD.** Institut de recherche de la Gendarmerie Nationale. Accepté le 18 sep 2003. Vol 15. P: 199.
- ✚ **DANGOUMAU J.; 2006.** Pharmacologie générale. Université Victor Segalen - bordeaux 2 département de pharmacologie. N° 2-909176-24-X. P: 1-513.
- ✚ **DRIAD Y.; 2009.** Stabilité du paracétamol: Application à un sachet produit en industrie pharmaceutique. Thèse Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1. P: 14-17.
- ✚ **FENNI S.; 2020.** Caractérisation physico-chimique Du PARALGAN® 500 UI/CP. Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Licence professionnelle en : Génie de la formulation. Université AKIL MOHNAD OULHADJ- Brouira- Institut de Technologie. P: 56.
- ✚ **FINDLAY.; 2000.** Guide de validation des méthodes d'analyse; Lavoisier Editions Tec et AMP.
- ✚ **GRATIEN A.; 2008.** Spectroscopie ultraviolet-visible et infrarouge de molécules clés atmosphériques. Pour l'obtention du diplôme de Docteur en Sciences Spécialité Sciences de l'Univers et de l'Environnement Sciences de la Terre. Université Paris-Est. Français. P: 27-30.
- ✚ **Gratien A.; 2008.** Spectroscopie ultraviolet-visible et infrarouge de molécules clés atmosphériques. Pour l'obtention du diplôme de Docteur en Sciences Spécialité : Sciences de l'univers et de l'Environnement. Université Paris-Est, Français. NNT: 2008PEST0038. P: 19-30.
- ✚ **Guide pratique pour la validation; 2005.** Le contrôle qualité, et l'estimation de l'incertitude d'une méthode d'analyse œnologique alternative. Résolution Oeno. P: 91. <https://www.oiv.int/public/medias/2754/oiv-ma-as1-12fr.pdf>
- ✚ **HAMICHE L., BOUSSEKINE F.; 2013.** Validation de la méthode de dosage du paracétamol dans le produit fini IXPRIM (paracétamol/ tramadol). Mémoire réalisé e vue de l'obtention du diplôme de Master en science et technologie des médicaments. université A.MIRA de Bejaia. P: 2-11.

- ✚ **HELOÏSE G., GABRIEL M.; 1979.** Spectrométrie d'absorption. Problèmes généraux. Masson. Paris. Vol 696. P: 2–225.
- ✚ **HOUROUSSEAU J. L.; 2011.** Initiation à la connaissance du médicament. France. Ellipses. N° 142899. P: 1-3. Misa à jour sur: [www.editions-ellipses.fr](http://www.editions-ellipses.fr)
- ✚ **HUBERT P. et al.; 2006.** Commission SFSTP (Validation des procédures analytiques quantitatives Harmonisation des démarches partie 1).
- ✚ **ICMUB D., SAVARY A.; 2009.** Spectroscopie UV-Visible. BP 47870 21078. Dijon.
- ✚ **ISO/IEC 17025; 2005.** General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
- ✚ **JOHN W. et al.; 2004.** Application de la précision statistique (exactitude et précision) des résultats et méthode de mesure. Organisation internationale de normalisation (ISO), IOS. Genève Suisse. P: 1-6.
- ✚ **LAËTITIA J.; 2014.** Toxicité du paracétamol Enjeux de la libéralisation du paracétamol Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. P: 33-37.
- ✚ **LEFEBVRE L.; 2020.** Guidelines ICH: La validation des méthodes analytique. E for Heath care.
- ✚ **MARIANNE R.; 2011.** Validation du procédé de fabrication dans l'industrie pharmaceutique, Appliquée aux formes solides orales. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de limoges Faculté de pharmacie. P: 11.
- ✚ **MARTINE P. et al.; 2003.** Validation d'une méthode de dosage de la cocaïne dans les produits d saisies par méthode de mesure. Organisation internationale de normalisation (ISO), ISO. Genève. Suisse. P: 197-207.
- ✚ **MICHAUT A.; 2015.** Mise au point d'un modèle cellulaire de stéatose hépatique liée à l'obésité: Application à l'étude de la toxicité du paracétamol. Thèse pour le grade de docteur de l'université de rennes 1. Mention: Biologie et Sciences de la Santé. P: 56-164
- ✚ **OWEN T.; 2016.** Atomic spectroscopy applications in the contract environmental laboratory (Applications en spectroscopie atomique dans le laboratoire environnemental contractuel). Agilent Technologies. N° 5991-5326.
- ✚ **PROUCHANDY C.; 2018.** Les médicaments génériques et biosimilaire. Thèse Pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. P: 8-106.
- ✚ **ROZET E. et al.; 2007.** Improvement of the decision efficiency of the accuracy profile by means of a desirability function for analytical method validation – Application to a diacetylmonoxime colorimetric assay used for the determination of urea in transdermal iontophoresis. ex. Anal. Acta. P: 239.

## Les references bibliographiques

- ✚ **THIAM M.; 2000.** Le dosage par spectroscopie proche infrarouge: application au test d'uniformité de teneur des comprimés – méthodologie. STP Pharma Pratiques. Vol 05. P: 1-20.
- ✚ **VASSAULT A. et al.; 1999.** Analyses de biologie médicale: spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation des techniques. Ann Iol Clin. Vol 57. P: 95-685.  
<https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-04>
- ✚ **VIAL J.; 2006.** Définition de la validation de méthodes et outils associés. Journée de Formation Scientifique en Spectrométrie Atomique. Paris. P: 6.



# **ANNEXES**

Annexes :

Table de Student  $t$ 

$\nu$	$\alpha$					
	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
$\infty$	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.090