

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ MOHAMED SEDDIK BEN YAHIA - JIJEL**



**Faculté des Sciences Exactes et Informatique**

**Département de Chimie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie**

**Option : Chimie Pharmaceutique**

## **THEME**

---

**Développement et validation d'une nouvelle méthode du dosage  
d'un principe actif dans une forme pharmaceutique**

---

**Présenté par : Inesse AISSANI**

**Soutenu le : 17/07/2021 devant le jury composé de :**

<b>M<sup>me</sup> Hadjira BOUCHLOUKH</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Jijel</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup> Meriem KEMEL</b>	<b>MAA</b>	<b>Université de Jijel</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>M<sup>r</sup> Smail KHELILI</b>	<b>Pr</b>	<b>Université de Jijel</b>	<b>Examineur</b>

# Remerciements



*Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie, de la faculté des sciences exactes et informatique de l'université de Jijel.*

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

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

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude et mon profond respect à mon encadreur Mme Meriem KEMEL pour m'avoir constamment guidé tout au long de mon travail.*

*Aussi, Je tiens à remercier le président de jury Mme Hadjira BOUCHLOUKH et l'examineur Mr Smail KHELILI pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail.*

*J'exprime également ma gratitude à tous les professeurs et enseignants qui ont collaboré à ma formation depuis ma première année d'étude jusqu'à la fin de mon cycle universitaire.*

*Mes sincères remerciements s'adressent à toute personne qui m'a aidé de loin ou de près pour réaliser ce travail.*

# Dédicace



*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, reconnaissance...*

*Je dédie ce mémoire ...*

**À mon défunt très cher père RACHID**

*Que j'aurais aimé qu'il soit présent pour voir ce que je suis devenu aujourd'hui. Puisse dieu lui réserver une place dans le paradis comme celle qu'il a dans mon cœur.*

**À ma très chère Mère MASSOUDA**

*Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué. Votre bonté et votre générosité sont sans limite. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. En ce jour, j'espère réaliser l'un de vos rêves. Pour tous les encouragements et le réconfort qui n'ont cessé de me servir de guide. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon grand amour que je n'ai su exprimer avec les mots.*

*Que dieu, tout puissant, vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.*

**À mes très chères frères et sœurs : SALIHA, IMENE, NADJI, MOUNIR et HASSIBA**

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite en témoignage de l'affection, de l'attachement et de l'amour que je porte pour vous.*

**À mes chères et adorables nièces, mes princesses TASNIM et AFNAN**

*que dieu les garde et les bénisse.*

**À ma très chère SALMA**

*Tu es pour moi plus qu'une amie ; une sœur, une confidente ... je te souhaite tout le bonheur du monde et merci de toujours être là pour moi.*

**À mes grands parents, mes oncles et leurs épouses, mes tantes et leurs époux, mes cousins et mes cousines**

*Pour votre soutien et vos encouragements. Je vous dédie mon travail en témoignage de mon amour.*

**À toutes mes amies que j'aime et à qui je souhaite un avenir plein de réussite et de bonheur.**

*Merci pour tous les bels moments, les fous-rires et la joie qu'on a partagé ensemble.*

**À tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.**

# SOMMAIRE

<i>Introduction générale</i> .....	1
------------------------------------	---

## Chapitre I

### Généralités sur les médicaments

<b>I .1 Notions sur les médicaments</b> .....	3
<b>I .1.1 Définition</b> .....	3
<b>I .1.2 Composition</b> .....	3
I .1.2.1 Principe actif.....	3
I .1.2.2 Excipient.....	3
<b>I .1.3 Les anti-inflammatoires</b> .....	4
I .1.3.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	4
I .1.3.2 Les effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	4
I .1.3.2.1 Effet anti-inflammatoire .....	4
I .1.3.2.2 Effet analgésique .....	4
I .1.3.2.3 Effet antipyrétique.....	5
I .1.3.3 Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	5
I .1.3.4 Naproxène.....	5
I .1.3.4.1 Propriété physico-chimique du naproxène.....	5
I .1.3.4.2 Propriétés pharmacocinétique du naproxène.....	6

## Chapitre II

### Différentes étapes du contrôle de qualité d'un médicament

<b>II .1 Contrôle de qualité du principe actif</b> .....	8
<b>II .1.1 L'identification</b> .....	8
<b>II .1.2 L'essai</b> .....	9
II.1.2.1 Substances apparentées.....	9
II.1.2.2 Pureté énantiomérique.....	9

II.1.2.3 Métaux lourds.....	9
II.1.2.4 Cendres sulfuriques.....	10
II.1.2.5 Solvants résiduels.....	10
II.1.2.6 Perte à la dessiccation.....	10
<b>1.1 II .1.3 Le dosage.....</b>	<b>10</b>
<b>II .2. Validation d'une méthode d'analyse de médicament.....</b>	<b>11</b>
<b>II .2.1 Définition.....</b>	<b>11</b>
<b>II .2.2 Objectif.....</b>	<b>11</b>
<b>II .2.3 Critères de validation analytique.....</b>	<b>12</b>
II .2.3.1.Critères obligatoires.....	12
II .2.3.1.1 Spécificité.....	12
II .2.3.1.2 Linéarité.....	12
II .2.3.1.3 Fidélité.....	13
II .2.3.1.4 Exactitude.....	13
II .2.3.1.5 Limite de détection.....	14
II .2.3.1.6 Limite de quantification.....	14
II .2.3.2 Critères facultatifs.....	14
II .2.3.2.1 Robustesse.....	14
II .2.3.2.2 Stabilité.....	14

## **Chapitre III**

### **Techniques utilisées pour le dosage**

<b>III .1 Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible.....</b>	<b>15</b>
<b>III .1.1 Définition.....</b>	<b>15</b>
<b>III .1.2 Appareillage.....</b>	<b>17</b>
<b>III .1.3 Aspect quantitatif.....</b>	<b>17</b>
<b>III .1.4 Aspect qualitatif.....</b>	<b>17</b>
III .1.4.1 Types de transitions électroniques.....	17
III .1.4.2 Effets de l'environnement sur les transitions électroniques.....	18
III .1.4.3 Spectre UV-visible d'une molécule.....	19
III .1.4.4 Intérêt analytique des spectres d'absorption UV-visible.....	20

# Chapitre IV

## Matériels et méthodes

### IV .1. Partie I : Identification, recherche des impuretés et dosage du naproxène dans la matière première selon les normes de la pharmacopée

<b>IV .1.1 Matériel et produits chimiques</b> .....	21
<b>IV .1.2 Identification</b> .....	22
IV .1.2.1 Pouvoir rotatoire spécifique.....	22
IV .1.2.2 Point de fusion.....	22
IV .1.2.3 Spectroscopie d'absorption UV.....	22
<b>IV .1.3 Essai</b> .....	22
IV .1.3.1 Perte à la dessiccation.....	22
IV .1.3.2 Métaux lourds.....	22
IV .1.3.3 Cendres sulfuriques.....	22
<b>IV .1.4 Dosage</b> .....	23

### IV .2 Partie II : dosage du naproxène dans le comprimé

<b>IV .2.1 Mise au point de la méthode et optimisation des conditions</b> .....	24
<b>IV .2.2 Protocole de validation de la méthode du dosage du naproxène dans le comprimé</b> .....	24
IV .2.2.1 Spécificité (1).....	25
IV .2.2.2 Linéarité.....	25
IV .2.2.3 Spécificité (2).....	25
IV .2.2.4 Fidélité.....	26
IV .2.2.5 Exactitude.....	26
IV .2.2.6 Robustesse.....	26
IV .2.2.7 Stabilité.....	27

# Chapitre V

## Résultats et discussion

### V .1 Partie I : Identification, recherche des impuretés et dosage du naproxène dans la matière première selon les normes de la pharmacopée

<b>V.1.1 Identification</b> .....	28
V.1.1.1 Pouvoir rotatoire spécifique.....	28
V.1.1.2 Point de fusion.....	28
V.1.1.3 Spectroscopie d'absorption UV.....	28
<b>V .1.2 Essai</b> .....	29
V .1.2.1 Perte à la dessiccation.....	29
<b>V.1.3 Dosage</b> .....	29

### V .2 Partie II : dosage du naproxène dans le comprimé

<b>V .2.1 Mise au point de la méthode et optimisation des conditions</b> .....	31
<b>V .2.2 Validation de la méthode du dosage du naproxène dans le comprimé</b> .....	32
V.2.2.1 Spécificité (1).....	32
V.2.2.2 Linéarité.....	33
V.2.2.3 Spécificité (2).....	36
V.2.2.4 Fidélité.....	36
V.2.2.5 Exactitude.....	37
V .2.2.6 Limite de détection (LOD).....	38
V .2.2.7 Limite de quantification (LOQ).....	38
V.2.2.8 Robustesse.....	39
V .2.2.8.1 Variation du pH.....	39
V .2.2.8.2 Variation de la longueur d'onde.....	39
V.2.2.9 Stabilité.....	40
<b>Conclusion générale</b> .....	41
<b>Références bibliographiques</b> .....	42

# LISTE DES FIGURES

<b><u>Figure 1.</u></b>	Spectre électromagnétique de la lumière et domaine UV-visible.....	15
<b><u>Figure 2.</u></b>	Principe de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire.....	16
<b><u>Figure 3.</u></b>	Les différents types de transitions électroniques.....	18
<b><u>Figure 4.</u></b>	Effets de l'environnement sur les transitions électroniques.....	19
<b><u>Figure 5.</u></b>	Spectrophotomètre UV-Visible.....	24
<b><u>Figure 6.</u></b>	Spectre d'absorption UV du NPX.....	28
<b><u>Figure 7.</u></b>	Courbes typiques de titrage acido-basique et de son dérivée du naproxène.....	29
<b><u>Figure 8.</u></b>	Spectres d'absorption du naproxène obtenus dans différents diluants.....	31
<b><u>Figure 9.</u></b>	Spectres obtenu avec le placebo et le naproxène.....	32
<b><u>Figure 10.</u></b>	Courbe d'étalonnage pour le dosage de naproxène par spectrophotométrie UV...	33
<b><u>Figure 11.</u></b>	Spécificité de la méthode de dosage de naproxène.....	36



# LISTE DES TABLEAUX

<b><u>Tableau 1.</u></b>	Propriétés physico-chimiques du naproxène.....	6
<b><u>Tableau 2.</u></b>	Préparation des solutions pour la linéarité.....	25
<b><u>Tableau 3.</u></b>	Préparation des solutions pour la spécificité.....	26
<b><u>Tableau 4.</u></b>	Résultats du contrôle physico-chimique de la MP du NPX.....	30
<b><u>Tableau 5.</u></b>	Conditions expérimentales pour l'analyse par UV .....	32
<b><u>Tableau 6.</u></b>	Paramètres de la courbe d'étalonnage.....	34
<b><u>Tableau 7.</u></b>	Résultats de l'étude de la linéarité.....	35
<b><u>Tableau 8.</u></b>	Résultats d'étude de la fidélité de naproxène dans le comprimé.....	37
<b><u>Tableau 9.</u></b>	Résultats d'étude de l'exactitude du NPX.....	38
<b><u>Tableau 10.</u></b>	Variation du pH.....	39
<b><u>Tableau 11.</u></b>	Variation de la longueur d'onde.....	39
<b><u>Tableau 12.</u></b>	Stabilité des solutions préparées.....	40

# ABBREVIATIONS

ADME	Absorption Distribution Métabolisme Elimination
AFSSAPS	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
AINS	Anti-inflammatoires non Stéroïdiens
AIS	Anti-inflammatoires stéroïdiens
AMM	Autorisation de mise sur le marché
CCM	Chromatographie sur couche mince
CL	Chromatographie liquide
COX	Cyclo-oxygénase
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CSP	Code de la santé public
CV	Coefficient de variation
DCI	Dénomination commune internationale
DMN	Desméthylnaproxène
DO	Densité optique
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
ICH	International conférence on harmonisation
IR	Infrarouge
IUPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée
J	Jour
JP	Pharmacopée Japonaise
LI	Limite Inférieure
LOD	Limite de détection
LOQ	Limite de quantification
LS	Limite supérieure
M	Manipulateur
Moy	Moyenne
MP	Matière première
NPX	Naproxène
OM	Orbitale moléculaire
pH	Potentiel en ions hydrogène
Ph. Br	Pharmacopée Britannique
Ph. Eur	Pharmacopée Européenne

PR	Pourcentage de récupération
Qsp	Quantité suffisante pour
R <sup>2</sup>	Coefficient de régression
RSD	Déviatiion standard relative
RSD inter	Déviatiion standard relative inter-jour
RSD intra	Déviatiion standard relative intra-jour
RSD totale	Erreur systématique totale
SD	Standard deviation (Ecart type)
SM	Solution mère
USP	Pharmacopée des États-Unis
UV	Ultra-violet

*Introduction*

*Générale*

Le concept de la validation des méthodes analytiques est bien connu et accepté dans toutes les industries pharmaceutiques, chimiques, biopharmaceutiques ou agroalimentaires qui développent des procédures analytiques ou qui utilisent des méthodes analytiques pour le contrôle qualité de leurs produits. En effet, la validation est devenue une étape cruciale dans le cycle de vie d'une méthode analytique. C'est ainsi qu'après l'étape de l'optimisation, il devient essentiel et obligatoire de démontrer au moyen de la validation qu'une méthode optimisée correspond à l'usage attendu en fournissant, par ailleurs, des résultats fiables. Pour l'utilisation en routine, il est impératif que ces techniques soient aussi rapides et simples à utiliser, tout en conservant une qualité maximale.

L'objectif d'une méthode d'analyse est de pouvoir identifier et la quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues que le laboratoire aura à déterminer. L'introduction de la validation de ces méthodes permet la détermination avec un maximum de précision des quantités inconnues. Par ailleurs, il est sans doute que les laboratoires cherchent à minimiser les coûts d'analyse.

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode très largement utilisée notamment en industrie pharmaceutique dans le contrôle qualité des médicaments. La validation de ces méthodes analytiques a pris une grande importance dans la mesure où elle permet de fournir des résultats fiables. La spectrophotométrie se trouve être la méthode la plus commune aux laboratoires et qui peut être efficacement utilisée là où les appareils les plus modernes et chers notamment la CPG et l'HPLC sont indisponibles. Elle s'avère donc être une méthode particulièrement économique.

D'autre part, il est rapporté dans plusieurs littératures que cette méthode a l'avantage d'être simple, rapide, sensible, sélective, exacte et reproductible. Cependant, il faut bien noter que cette méthode apporte peu d'informations structurales d'où elle se voit limiter dans l'analyse qualitative (Saley, 2013).

L'objectif de notre travail est l'optimisation et la validation d'une méthode simple de dosage du naproxène par spectrophotométrie UV conformément aux guidelines ICH. A ce stade, la matière première du naproxène (NPX) a été analysée selon les normes de la pharmacopée Européenne. Le dosage de NPX dans la forme solide sera effectué par spectrophotométrie après validation complète de la technique retenue.

Le mémoire présentant les résultats de notre travail comporte cinq chapitres : les deux premiers chapitres sont consacrés à la bibliographie sur :

- Les propriétés physico-chimiques et pharmacologiques du naproxène et des méthodes d'analyse de cette substance.
- La validation analytique en spectrophotométrie ultraviolet.

La technique d'analyse utilisée au cours de notre travail est décrite dans le troisième chapitre.

Une partie expérimentale, dans laquelle nous présentons les différentes techniques analytiques utilisées et les conditions opératoires choisies, constitue le quatrième chapitre.

Dans le dernier chapitre, les résultats obtenus concernant le contrôle physico-chimique de la matière première, l'optimisation et la validation des méthodes de dosage du naproxène dans la préparation pharmaceutique, seront interprétés et discutés.

# *Chapitre I*

*Généralités sur les médicaments*

## **I .1 Notions sur les médicaments**

### **I .1.1 Définition**

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

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

Il est constitué de substances actives combinées à des excipients, qui sont formulés et mis en forme pharmaceutique de façon à être adaptés à l'usage qui sont présentés dans un récipient approprié, convenablement étiqueté (Ph. Eur 8.0, 2013).

### **I .1.2 Composition**

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

#### **I .1.2.1 Principe actif**

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

#### **I .1.2.2 Excipient**

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



### **I.1.3 Les anti-inflammatoires**

Les médicaments anti-inflammatoires sont considérés comme la classe thérapeutique la plus prescrite au monde. Son utilisation est très fréquente chez l'homme dans de nombreux domaines de la pathologie puisqu'ils sont indiqués dans les affections les plus bénignes. Leur principal mécanisme d'action est l'inhibition de la synthèse des prostaglandines (Benameur et Arroudj, 2016). On distingue généralement deux catégories d'anti-inflammatoires : les uns sont hormonaux (Les anti-inflammatoires stéroïdiens AIS) et les autres ne sont pas (les anti-inflammatoires non Stéroïdiens AINS).

#### **I.1.3.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments symptomatiques capables de s'opposer au processus inflammatoire, quelle qu'en soit la cause (mécanique, chimique, infectieuse, immunologique), ils agissent sur les signes locaux de l'inflammation : rougeurs, chaleur, douleur et œdème. En outre, tous les AINS possèdent à côté de leur action anti-inflammatoire, une action antalgique et antipyrétique (Talbert, 1998).

Les AINS appartiennent à diverses catégories chimiques mais sont tous capables de bloquer la formation de certaines substances comme les prostaglandines, médiateurs chimiques nécessaires au développement de l'inflammation. Ils sont surtout efficaces dans les phases aiguës de l'inflammation et sont utilisés en rhumatologie, en urologie (coliques néphrétiques), en gynécologie (règles douloureuses) (Caron, 2006).

#### **I.1.3.2 Les effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens**

**I.1.3.2.1 Effet anti-inflammatoire :** le rôle des prostaglandines dans l'inflammation est de produire une vasodilatation et d'augmenter la perméabilité vasculaire.

L'effet anti-inflammatoire relativement modeste des AINS donnés à la plupart des patients présentant une arthrite rhumatoïde, soulage parfois la douleur, la raideur et le gonflement, mais ne modifie pas la cause de la maladie (Neal, 2017).

##### **I.1.3.2.2 Effet analgésique**

L'action analgésique des AINS s'exerce à la fois au niveau périphérique et au niveau central, mais l'effet périphérique prédomine, leur effet analgésique est habituellement associé à leur effet anti-inflammatoire et résulte de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines dans les tissus enflammés (Neal, 2017).

**I .1.3.2.3 Effet antipyrétique :** qui est susceptible d'abaisser la température jusqu'à des valeurs proches de la normale en cas de fièvre (Grünfeld, 1994).

### **I .1.3.3 Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont largement utilisés dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrose et la douleur (douleur dentaire, douleur postopératoire etc.).

Le mécanisme d'action des AINS est l'inhibition de la cyclo-oxygénase (COX), cette enzyme est une protéine, qui intervient par différentes réactions pour aboutir à la formation des substances impliquées dans : l'inflammation, la fièvre, la protection de la muqueuse de l'estomac et l'agrégation des plaquettes sanguine (Dangoumau et al., 2006). Cette COX existe sous deux formes, COX-1 et COX-2, dont chacune a ses spécificités :

La COX-1 est impliquée dans les phénomènes plaquettaires et stomacaux ; la COX-2 est spécifique de l'inflammation et de la fièvre (Talbert, 1998).

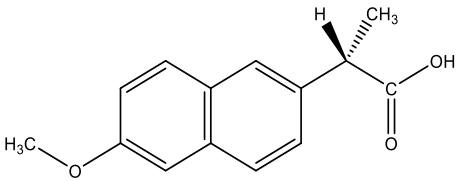
### **I .1.3.4 Naproxène**

Le naproxène fait partie de la classe thérapeutique des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). C'est un dérivé de l'acide arylacétique sur lequel on retrouve un groupement d'acide propanoïque (Mehta et al., 2012). Ce médicament possède des propriétés analgésique, anti-inflammatoire et antipyrétique en diminuant la formation de précurseurs de prostaglandines. Il est prescrit pour plusieurs traitements afin de soulager une variété de douleurs aiguë et chronique y compris, l'arthrite, l'arthrose, les rhumatismes, les migraines et les maux de tête. Il a également d'autres usages thérapeutiques mineurs comme dans le traitement des crampes menstruelles, l'extraction dentaire ou même contre un rhume (Sahoo et al., 2014).

#### **I .1.3.3.1 Propriété physico-chimique du naproxène**

Le naproxène (NPX) est une molécule acide commercialisé sous forme de naproxène ou de naproxène sodique, qui est une poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche, très soluble dans le méthanol et l'éthanol à 96 pour cent. Les différentes propriétés physico-chimiques du NPX sont regroupées dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Propriétés physico-chimiques du naproxène.

Dénomination commune internationale (DCI)	NAPROXÈNE
Dénomination chimique selon IUPAC	Acide (2 <i>S</i> )-2-(6-méthoxynaphtalén-2-yl)propanoïque.
Structure moléculaire	
Formule brute	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
Masse moléculaire (g/mol)	230,3
Point de fusion (°C)	154 à 158
Pouvoir rotatoire spécifique (°.dm <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> .cm <sup>3</sup> )	59–62

#### I .1.3.4.2 Propriétés pharmacocinétique du naproxène

La pharmacocinétique a pour but d'étudier le devenir d'un médicament dans l'organisme. C'est une étape importante pour comprendre l'action d'un médicament et pour améliorer son efficacité (Stora, 2008). On peut distinguer schématiquement quatre étapes dans la pharmacocinétique d'un médicament (ADME).

**a) L'absorption :** le naproxène est rapidement et complètement absorbé par le tractus gastro-intestinal avec une biodisponibilité *in vivo* de 95%. L'étendue et le taux d'absorption orale sont influencés par la présence d'aliments dans l'estomac. Après l'administration de comprimés de naproxène et de naproxène sodique, les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes en 2 à 4 heures et 1 à 2 heures, respectivement. Ces différences entre les produits à base de naproxène sont liées à la fois à la forme chimique du naproxène utilisé et à sa formulation (Dharmalingam et al., 2017).

**b) Distribution :** Le volume de distribution du naproxène est faible, soit d'environ 0,1 l/kg. L'état d'équilibre des concentrations est atteint en deux jours et on n'a pas observé d'accumulation significative. Plus de 99 % du naproxène circulant est lié à l'albumine (Davies et al., 1997).

c) **Métabolisme** : le naproxène est soit métabolisé par le cytochrome P450 en 6-O-desméthylnaproxène (DMN) et transformé en glycuconjugés, soit non métabolisé (Davies et al., 1997).

d) **Élimination** : le naproxène et ses métabolites sont principalement éliminés par les reins (>95 %). La demi-vie d'élimination du naproxène est d'environ 14 heures. Il y a une étroite corrélation entre la vitesse d'élimination et la vitesse de la baisse de la concentration plasmatique du médicament (Davies et al., 1997).

# *Chapitre II*

*Différentes étapes du contrôle de  
qualité d'un médicament*

## II .1 Contrôle de qualité du principe actif

Un principe actif doit être obtenu sous une forme standardisée, reproductible d'un lot de fabrication à l'autre et aussi pure que possible. Les normes auxquelles il doit satisfaire sont fixées par la pharmacopée ou précisées dans le dossier préalable à leur autorisation d'utilisation (OMS, 1998).

Selon l'article R-S001 du CSP, une Pharmacopée est un «recueil contenant la nomenclature des drogues, des médicaments simples et composés, et des articles officinaux. Elle indique les caractères des médicaments, les moyens qui permettent de les identifier, les méthodes d'essais et d'analyses à utiliser pour assurer leur contrôle, les procédés de préparation, de stérilisation, de conservation des médicaments ainsi que les règles de leur conditionnement, leurs principales incompatibilités et un ensemble de données qui peuvent être utiles au pharmacien pour leur préparation et leur délivrance » (Swarbrick, 2007).

Il existe plusieurs Pharmacopées avec entre autre :

- **La Pharmacopée Française** : peu utilisée par rapport à la Pharmacopée Européenne.
- **La Pharmacopée Européenne (Ph. Eur)** : publiée par le Service Européen de la Qualité du Médicament du Conseil de l'Europe de Strasbourg.
- **La Pharmacopée Américaine (USP)** : créée en 1900 et dénommée « United States Pharmacopeia Convention».
- **La Pharmacopée Britannique (Ph. Br)** : dénommée « British Pharmacopoeia».
- **La Pharmacopée Japonaise (JP)**

L'analyse d'un médicament est codifiée par une monographie qui est un protocole d'analyse d'une matière première ou d'un produit fini. Les monographies de la pharmacopée préconisent trois étapes qui sont :

### II .1.1 L'identification

Les tests et les réactions d'identification ont pour objectif la confirmation de l'identité d'une substance. Ces procédés analytiques doivent être suffisamment spécifiques. Ils peuvent être subdivisés en « Première identification » et « Seconde identification ».

Les essais d'identification sont désignés par une lettre : A, B, C, etc., à moins que la monographie ne prescrive qu'une seule identification. Les essais les plus redondantes sont :

- ✓ Spectrométrie d'absorption infrarouge (IR)
- ✓ Spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible
- ✓ Point de fusion et point d'ébullition
- ✓ Pouvoir rotatoire
- ✓ Réactions chimiques
- ✓ Chromatographie sur couche mince (CCM)
- ✓ Chromatographie en phase gazeuse (GPC) et Chromatographie liquide (CL) (Azzouz, 2019).

### II .1.2 L'essai

Peuvent être, soit des essais quantitatifs, soit des essais limites portant sur les impuretés contenues dans un échantillon. Ils représentent la garantie que toutes les procédures d'analyse permettent une évaluation de la teneur en impuretés de la substance à analyser (Caporal-Gautier et al., 1992) ; par exemple :

#### II .1.2.1 Substances apparentées

Le chemin de synthèse des principes actifs peut être décrit par un schéma réactionnel comportant plusieurs étapes. Ces étapes peuvent générer des produits intermédiaires retrouvés à l'état de traces dans le produit fini. Ces traces portent le nom de substances apparentées. Leurs qualités et leurs quantités sont fixées dans les différentes pharmacopées (Gomez et al. , 2004).

#### II .1.2.2 Pureté énantiomérique

Quelle que soit l'activité pharmacologique présentée par le distomère, sa présence à côté de l'énantiomère parent doit être considérée comme celle d'une impureté (Eichelbaum et Gross, 1996).

#### II .1.2.3 Métaux lourds

Ce test a pour but de démontrer que la teneur en impuretés métalliques, dans les conditions d'essais spécifiées, ne dépasse pas la limite fixée dans la monographie, exprimée en pourcentage (en poids) de plomb dans la substance d'essai, qui est déterminé par comparaison visuelle concomitante (Chapter, 2011).

**II .1.2.4 Cendres sulfuriques**

Cet essai est destiné au dosage global des cations étrangers présents dans les substances organiques, et dans les substances inorganiques se volatilisant dans les conditions de l'essai (Azzouz, 2019).

**II .1.2.5 Solvants résiduels**

Les solvants, y compris l'eau, font partie intégrante du procédé d'obtention d'un médicament. Compte tenu de leur conséquence éventuellement négative sur le plan pharmaceutique, leurs teneurs résiduelles doivent être aussi faibles que possibles (Bauer, 2001).

**II .1.2.6 Perte à la dessiccation**

La dessiccation a pour but d'enlever totalement ou partiellement l'eau contenue dans un produit solide. Cet essai permet de déterminer la proportion de tous les produits volatils susceptibles d'être éliminés dans des conditions spécifiques, le plus souvent l'eau et les solvants organiques (Aiache et al., 2011).

**II .1.3 Le dosage**

Cette section vise à contrôler la teneur en substance dans la matière première. Toute méthode de dosage proposée doit être validée.

Les techniques analytiques les plus redondantes sont :

- Les méthodes chromatographiques
- La spectrométrie d'absorption moléculaire dans l'ultraviolet et le visible
- Le dosage de l'azote par minéralisation à l'acide sulfurique
- Les titrages volumétriques basés sur des réactions acido-basiques, de précipitations, de complexation ou d'oxydoréduction. Le point de fin de titrage est déterminé par un indicateur coloré ou par potentiométrie (Azzouz, 2019).



## II .2. Validation d'une méthode d'analyse de médicament

Avant de procéder au contrôle de qualité de tout produit dans un laboratoire, la validation analytique constitue une étape obligatoire. Cependant, depuis plus de 20 ans ; de nombreux guides ou recommandations plus ou moins officielles ont été publiées ; définissant les critères de validation à évaluer pour démontrer la performance d'une méthode analytique.

En outre, la validation des méthodes n'est pas spécifique à l'industrie pharmaceutique ; mais elle est indispensable pour la plupart des industries impliquant des tests biologiques ou chimiques. Même si chaque domaine d'activité a ses propres caractéristiques et enjeux ; les principaux critères à évaluer sont similaires ou devraient être semblables puisque la validation d'une méthode d'analyse est indépendante du secteur industriel ; de la matrice des échantillons ou de la technique d'analyse utilisée (Bouabidi, 2013).

### II .2.1 Définition

La validation d'une méthode analytique est l'opération par laquelle on s'assure que ses résultats répondant au problème de manière satisfaisante pour l'utilisateur. Elle s'efforce de détecter et contrôler les sources d'erreurs possibles liées à la méthode étudiée : sa définition dans les normes « Valider une méthode consiste à démontrer, avec un degré de confiance élevé et sous une forme documentée, que la méthode permet d'obtenir un résultat analytique qui atteint les spécifications définis à l'avance » (Feinberg, 2007).

### II .2.2 Objectif

La validation des méthodes analytiques a pour principal objectif de s'assurer qu'une méthode analytique donnée donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse. Il faut donc définir correctement à la fois les conditions dans lesquelles la méthode sera utilisée et le but dans lequel elle sera employée. Ces principes s'appliquent à toutes les méthodes utilisées par un fabricant de produits pharmaceutiques, qu'elles soient ou non décrites dans une pharmacopée. Autrement dit : « Le but de la validation d'une procédure analytique est de démontrer qu'elle correspond à l'usage pour lequel elle est prévue » (Feinberg, 2007).

## II .2.3 Critères de validation analytique

Les étapes de développement et de validation des méthodes d'analyses dépendent du type de procédé en cours de développement. Les principaux critères de validation sont ceux couramment utilisés dans les laboratoires d'analyses et dont la nécessité de l'étude a fait l'objet d'un large consensus. Ces critères sont les suivants :

### Critères obligatoires

- ✓ Spécificité
- ✓ Linéarité
- ✓ Fidélité
- ✓ Exactitude
- ✓ Limite de détection (LOD)
- ✓ Limite de quantification (LOQ)

### Critères facultatifs

- ✓ Robustesse
- ✓ Stabilité

### II .2.3.1.Critères obligatoires

#### II .2.3.1.1 Spécificité

La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents. Une procédure d'analyse est dite spécifique lorsqu'elle permet de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser ou qu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physico-chimique ou un groupement fonctionnel d'une ou de plusieurs substance(s) dans l'échantillon (Hubert et al., 2003).

Pour vérifier qu'il n'y a pas d'interférence des excipients, il faut faire une linéarité avec des étalons chargés en excipients et les comparer à ceux réalisés avec les étalons seuls (Ermer et Miller McB, 2005).

#### II .2.3.1.2 Linéarité

C'est la capacité à l'intérieur d'un certain intervalle à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration de la substance à examiner dans l'échantillon. Elle s'exprime traditionnellement par la pente de la régression (Camara, 2013).

Cette proportionnalité s'exprime à travers une expression mathématique définie par une droite du 1<sup>er</sup> ordre  $y = ax + b$ . Elle est vérifiée par le calcul des constantes de droite ainsi que du coefficient de corrélation en utilisant la méthode des moindres carrés (régression linéaire) (Chan et al., 2004). Ce dernier doit être de l'ordre de 0,99.

### II .2.3.1.3 Fidélité

La fidélité de la procédure d'analyse exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion, coefficient de variation) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène (résultats d'essais indépendants) dans des conditions prescrites.

La fidélité fournit une indication sur les erreurs liées au hasard. La fidélité peut être évaluée à trois niveaux : la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra laboratoire) et la reproductibilité (inter laboratoire). Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées.

✓ **Répétabilité** : conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps.

✓ **Fidélité intermédiaire** : conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné.

✓ **Reproductibilité** : conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents (Hubert et al., 2003).

### II .2.3.1.4 Exactitude

L'exactitude représente l'accord entre la valeur mesurée et la valeur vraie ou conventionnellement vraie (Hubert et al, 2004). Elle est calculée à partir des résultats de la fidélité. On détermine :

La moyenne  $Y_m$  de tous les résultats de la fidélité

Le pourcentage de récupération PR.

La valeur du pourcentage de récupération est comprise entre deux valeurs limites qui sont la limite inférieure et la limite supérieure ( $LI < PR < LS$ ).

**II .2.3.1.5 Limite de détection**

La limite de détection est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être détectée, mais pas nécessairement quantifiée, à l'aide d'une méthode spécifique, dans les conditions expérimentales imposées. Cette valeur est égale à la concentration donnant un signal égal au triple du signal correspondant au bruit de fond (Maxwell et Sweeney, 1994).

**II .2.3.1.6 Limite de quantification**

La limite de quantification est la plus petite quantité de l'analyte pouvant être détectée avec une précision et une exactitude acceptable (Caporal-Gautier et al., 1992).

**II .2.3.2 Critères facultatifs****II .2.3.2.1 Robustesse**

C'est la capacité d'une méthode d'analyse à rendre des résultats exacts en présence de faibles changements de conditions expérimentales capable de se produire dans l'utilisation de cette procédure c'est-à-dire que cette méthode supporte ces changements, elle a pour but de définir les variations de chacun des paramètres opératoires qui peuvent modifier le résultat de l'analyse et de donner une idée sur la fiabilité de la méthode d'analyse (EMA, 1995).

**II .2.3.2.2 Stabilité**

Un médicament est considéré comme pratiquement stable lorsque, dans un laps de temps déterminé, ses propriétés essentielles ne changent pas ou changent au plus dans des proportions tolérables; de plus le médicament doit être conservé dans des conditions appropriées et prescrites de température, d'humidité et d'exposition à la lumière et qu'un récipient convenable a été utilisé (Huynh-Ba, 2009).

Ce paramètre n'est pas obligatoire pour valider une méthode analytique cependant il apporte des informations importantes et utiles. Le guide ICH déclare que cette étude doit être faite lors de développement de la méthode et non lors de la validation (Logeais, 2013).

# *Chapitre III*

*Techniques Utilisées pour le Dosage*

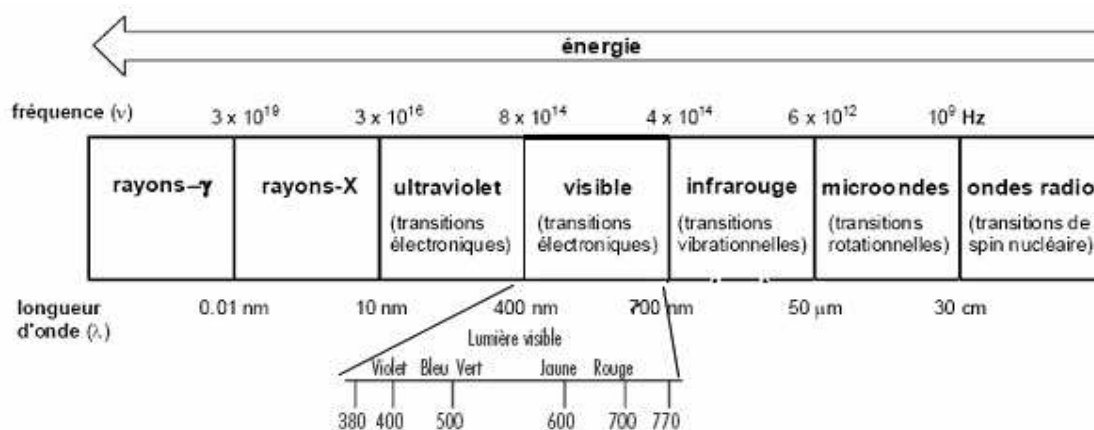
### III .1 Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible

Il existe plusieurs techniques de laboratoire pour le dosage et le contrôle de qualité d'un principe actif dans la matière première et le produit fini. Les plus courantes sont : la chromatographie en phase liquide à haute performance, la chromatographie en phase gazeuse et la spectrophotométrie d'absorption moléculaire. Ces méthodes diffèrent sensiblement quant à leurs capacités sur le plan analytique (par exemple limites de détection, exactitude), leurs coûts (coût d'achat et coût d'entretien du matériel, infrastructure nécessaire, réactifs et fournitures diverses) et leurs exigences techniques (par exemple préparation des échantillons, étalonnage, qualification du personnel). Ces facteurs vont, parallèlement à des considérations tenant à la situation et aux ressources du laboratoire, influencer la décision de choisir telle ou telle méthode.

Dans notre cas, la spectrophotométrie d'absorption moléculaire est la méthode choisie pour effectuer le dosage.

#### III .1.1 Définition

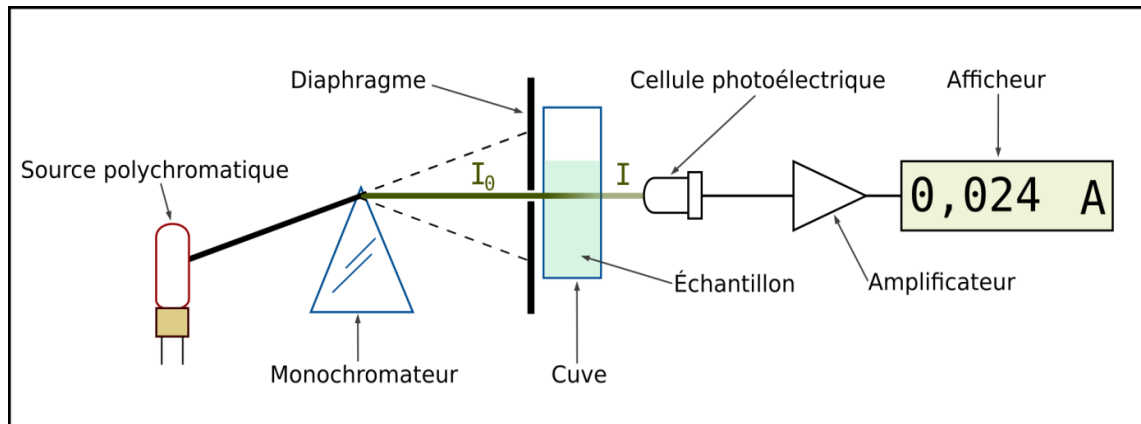
La spectrophotométrie correspond à l'étude des variations de grandeurs photométriques spectrales ou de leur équivalent énergétique résultant de l'interaction du rayonnement avec une substance placée sur le faisceau (Vaubourdolle, 2007). Le domaine de longueur d'onde de l'UV se situe entre 10 nm à 400 nm, celui du visible se situe entre 400 nm à 800 nm (Kuss, 2010).



**Figure 1.** Spectre électromagnétique de la lumière et domaine UV-visible (Kuss, 2010)

En spectrophotométrie d'absorption moléculaire, on sélectionne des photons de fréquence  $\nu_0$  absorbables par la molécule à étudier. Ainsi, lorsqu'un faisceau d'intensité  $I_0$  traverse une

solution de molécule absorbante, le faisceau transmis présente une intensité  $I$  inférieure à  $I_0$  (Camut, 2009).



**Figure 2.** Principe de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire (Camut, 2009)

Les applications analytiques de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible concernent les molécules en solution ; elles peuvent être qualitatives ou (et) quantitatives. Dans les deux cas, elles font appel à la loi de Beer-Lambert qui établit la relation existante entre intensité transmise  $I$  et intensité incidente  $I_0$ . Il a été démontré que :

$$I = I_0 e^{-KCL}$$

Où :

$I$  : intensité de la lumière transmise

$I_0$  : intensité incidente de la lumière traversée

$K$  : constante de proportionnalité

$C$  : concentration de la solution en soluté absorbant

$L$  : épaisseur de la solution traversée par le flux lumineux

Le phénomène d'absorption ne peut être évalué que par le rapport entre intensité incidente  $I_0$  et intensité transmise  $I$  du faisceau transmis dans la même direction. L'absorbance ( $A$ ) ou densité optique ( $DO$ ) est défini par :

$$A = \log(I_0/I) = \epsilon L C$$

Où :  $\epsilon$  est le coefficient d'extinction de la molécule, qui s'exprime de façon différente selon les unités choisies pour exprimer la concentration (Rouessac et al., 2019).

### III .1.2 Appareillage

Un spectrophotomètre est composé des différents éléments essentiels :

- Une source lumineuse génératrice d'une large bande de radiation) ;
- Un porte échantillon (ou porte cuve) ;
- Une unité de dispersion (monochromateur ou polychromateur) ;
- Un détecteur (mesure de l'intensité de la radiation) ;
- Divers composants optiques (lentilles, miroirs, filtres etc.).

### III .1.3 Aspect quantitatif

La loi de Beer-Lambert se prête à l'analyse quantitative dans la mesure où le signal mesuré l'absorbance (A) est proportionnel à la concentration en soluté absorbant de la solution. La validité de la loi de Beer Lambert n'est vraie que dans certaines conditions

- Une lumière monochromatique
- Une concentration plutôt faible
- Absence de fluorescence et diffusion négligeables (hétérogénéité)
- La substance ne doit pas donner lieu à des réactions chimiques sous l'effet du rayonnement incident
- La substance ne doit pas donner lieu à des associations variables avec le solvant.

Par ailleurs, lorsque plusieurs substances absorbantes sont présentes en solution, on observe une additivité des phénomènes (Meyer et al., 1996).

### III .1.4 Aspect qualitatif

#### III .1.4.1 Types de transitions électroniques

Les transitions électroniques correspondent au passage des électrons des orbitales moléculaires liantes et non liantes remplies, vers des orbitales moléculaires anti-liantes non remplies. La longueur d'onde d'absorption dépend des énergies des orbitales mises en jeu. L'absorption d'un photon dans le domaine UV-visible peut souvent être attribuée à des électrons appartenant à de petits groupes d'atomes appelés chromophores (C=C, C=O, C=N, C≡C, C≡N etc.).

##### a) Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$

La grande stabilité des liaisons  $\sigma$  des composés organiques fait que la transition d'un électron d'une OM liante  $\sigma$  vers une OM anti liante  $\sigma^*$  demande beaucoup d'énergie. La bande d'absorption correspondante est intense et située dans l'UV-lointain, vers 130 nm.



**b) Transition  $n \rightarrow \pi^*$** 

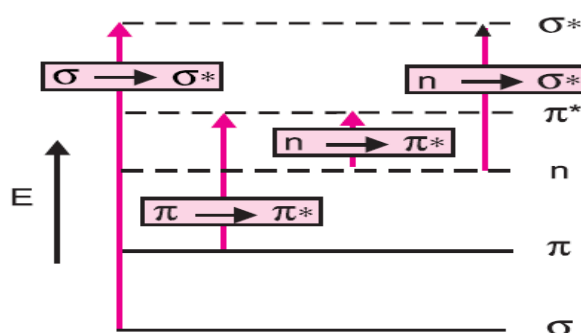
Cette transition résulte du passage d'un électron d'une OM non-liante  $n$  à une OM anti-liante  $\pi^*$ . Ce type de transition a lieu dans le cas des molécules comportant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres (N, O, S, F, Cl, Br, I) appartenant à un système insaturé. La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle située entre 270 et 280 nm. Le coefficient d'absorption molaire est faible.

**c) Transition  $n \rightarrow \sigma^*$** 

Le transfert d'un électron du doublet  $n$  d'un hétéroatome (O, N, S, Cl etc.) à un niveau  $\sigma^*$  est observé pour les alcools, les éthers, les amines ainsi que pour les dérivés halogénés. Cette transition donne une bande d'intensité moyenne qui se situe à l'extrême limite du proche UV.

**d) Transition  $\pi \rightarrow \pi^*$** 

La transition électronique dans les composés possédant une double liaison isolée conduit à une forte bande d'absorption vers 165-200 nm. Le diagramme de la figure montre les différents types des transitions électroniques relatives aux orbitales moléculaires de type  $\sigma$ ,  $\pi$  et  $n$  :



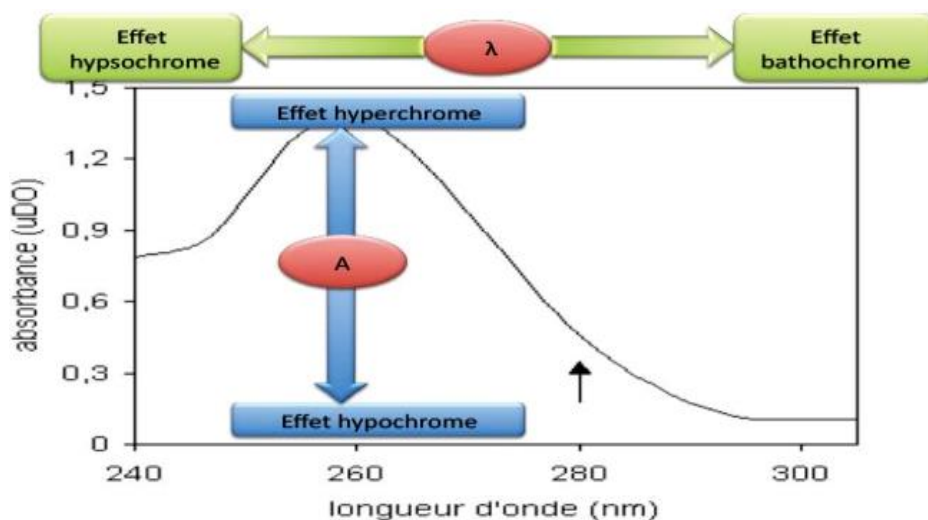
**Figure 3.** Les différents types de transitions électroniques (Chabbout et Hafsi, 2013)

**III .1.4.2 Effets de l'environnement sur les transitions électroniques**

La position et l'intensité des bandes en spectroscopie UV-visible dépendent du milieu auquel se trouve la molécule étudiée. On distingue quatre effets de l'environnement sur les transitions électroniques.

- ✓ **Effet bathochrome** : déplacement des bandes d'absorption vers les grandes longueurs d'onde.
- ✓ **Effet hypsochrome** : déplacement des bandes d'absorption vers les courtes longueurs d'onde.
- ✓ **Effet hyperchrome** : augmentation de l'intensité d'absorption.
- ✓ **Effet hypochrome** : diminution de l'intensité d'absorption (Chabbout et Hafsi, 2013).

Ces effets sont illustrés sur la figure 4.



**Figure 4.** Effets de l'environnement sur les transitions électroniques (Vaubourdolle, 2007).

### III .1.4.3 Spectre UV-visible d'une molécule

Le spectre UV-visible d'une molécule en solution se définit comme la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde ( $\lambda$ ) de la lumière incidente. Un spectre est enregistré à partir d'une solution de concentration connue dans un solvant déterminé, disposé dans une cuve d'épaisseur calibrée. Une molécule pourra être caractérisée en spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible par la description de son spectre  $A = f(\lambda)$ , en précisant les maxima et minima d'absorption, et le coefficient d'extinction moléculaire aux longueurs d'ondes correspondantes, ainsi que le solvant (Vaubourdolle, 2007).

En effet, par sa polarité, le solvant influence la valeur de l'énergie nécessaire à la transition électronique ; ce qui a pour conséquence d'induire un déplacement des  $\lambda_{\max}$  et une modification des valeurs d' $\epsilon$ . Les principaux groupes chimiques actifs dans l'UV proche correspondent aux chromophores fondamentaux :

- Composés éthyléniques et acétyléniques
- Composés carbonylés, acides carboxyliques et leurs dérivés (chlorure d'acide, anhydride, amide, ester)
- Dérivés nitrés et dérivés azoïques.

La présence de plusieurs chromophores isolés absorbants à la même longueur d'onde, augmente proportionnellement l'intensité d'absorption par simple effet d'additivité. Par contre les modifications importantes des caractéristiques spectrales ( $\epsilon$  et  $\lambda$ ) résultent des effets de conjugaison, d'addition de solvant (Camut, 2009).

**III .1.4.4 Intérêt analytique des spectres d'absorption UV-visible**

Le spectre d'absorption UV-visible permet de caractériser une molécule. Il est, par conséquent, un des critères d'identification de la molécule. Toutefois, l'absorption dans l'UV-visible permet plutôt de caractériser des groupements fonctionnels, et non une molécule dans son ensemble. Ainsi, la spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible ne permet pas d'identifier de façon absolue une molécule, et les spectres des molécules d'une même famille chimique sont très proches donc difficiles à différencier (Meyer et al., 1996).

# *Chapitre IV*

## *Matériels et Méthodes*

Notre travail porte sur le dosage d'un produit médicamenteux, le naproxène, en suivant les étapes de la monographie de contrôle physico-chimique de la matière première (MP) et le dosage de cette substance dans le produit fini.

## **IV .1. Partie I : Identification, recherche des impuretés et dosage du naproxène dans la matière première selon les normes de la pharmacopée.**

### **IV .1.1 Matériel et produits chimiques**

#### **a) Matériels utilisés**

- Un appareil spectrophotomètre UV-Visible de marque SECOMAM-IIIVILINE 9400.
- Un pH-mètre de marque inoLab pH720
- Un bain à ultrasons de marque Elmasonic P
- Une balance de type sartorius CP224S
- Polarimètre de type OPTIKA
- Fusiomètre de type BÜCHI Melting Point B-540.
- L'étuve de marque memmert
- Cellule en quartz

#### **b) Solvants et produits chimiques :**

- Naproxène (SIGMA\_ALDRICH)
- Nopain<sup>®</sup> 275 mg (générique)
- Placebo (benzoate de sodium, menthol, acide fumarique, chlorure de sodium, glycérine, sorbitol, glycérine, sucre, lauryl sulfate de sodium, arôme et émulsion de siméthicone)
- Éthanol (Riedel-de Haën)
- Méthanol (Riedel-de Haën)
- L'hydroxyde de sodium (VWR CHEMICALS)
- Ammoniac (Riedel-de Haën)
- Dihydrogénophosphate de potassium (VWR CHEMICALS)
- L'acide phosphorique (Riedel-de Haën)
- L'eau distillée

La monographie utilisée pour cette analyse est tirée de la Pharmacopée Européenne 6<sup>ème</sup> Edition (2008). Elle préconise trois étapes :

#### **IV .1.2 Identification**

Le test d'identification permet de vérifier l'identité de la substance indiquée sur l'étiquette, conformément aux monographies. D'après la monographie du naproxène, trois tests sont suffisants pour identifier notre substance (second identification).

##### **IV .1.2.1 Pouvoir rotatoire spécifique**

Dans une fiole de 25 ml, nous avons dissout 0.5 g de naproxène dans 25 ml de l'éthanol à 96 %. La lecture est effectuée à l'aide d'un polarimètre étalonné avec de l'éthanol pur.

##### **IV .1.2.2 Point de fusion**

Le point de fusion est déterminé par la méthode au tube capillaire correspond à la température à laquelle la dernière particule solide de substance introduite dans un tube en colonne compacte passe à l'état liquide (point de fusion complète) (Amina, 2018). Le point de fusion du naproxène est mesuré à l'aide de fusiomètre. Selon la norme de la Ph. Eur la MP du NPX est considérée conforme si le point de fusion se situe entre 154°C et 158°C.

##### **IV .1.2.3 Spectroscopie d'absorption UV**

Dans une fiole de 100 ml, nous avons dissout 40 mg de naproxène dans du méthanol, puis on complète jusqu'au trait de jauge avec le même solvant. La solution limpide obtenue est diluée 10 fois puis analysée par la spectroscopie UV.

#### **IV .1.3 Essai**

Compte tenu de nos moyens, les essais ont porté seulement sur des essais limites.

##### **IV .1.3.1 Perte à la dessiccation**

La dessiccation de NPX est effectuée dans l'étuve à 105°C pendant 3h sur 1,0 g de la matière première. La perte à la dessiccation ne doit pas être supérieure à 0,5 pour cent.

##### **IV .1.3.2 Métaux lourds**

###### **▪ Solution à examiner**

Dans un creuset de platine, nous avons broyé une prise d'essai égale à 1,0 g de naproxène et 0,5 g d'oxyde de magnésium. La calcination est réalisée au rouge sombre jusqu'à obtention d'une masse blanche à blanche grise homogène.

Cette masse est chauffée à 800 °C pendant 1 h environ. Le résidu obtenu est reconstitué avec 5 ml d'un mélange à volumes égaux d'acide chlorhydrique (5,5 M) et d'eau où 0,1 ml de solution de phénolphtaléine est introduit. On ajoute de l'ammoniac concentrée jusqu'à coloration rose. Après refroidissement, nous avons ajouté de l'acide acétique glacial jusqu'à décoloration, puis 0,5 ml en excès et complété à 20 ml avec de l'eau pure. A 12 ml de la solution obtenue, nous avons ajouté 2 ml de solution tampon à pH 3,5 et 1,2 ml de réactif au thioacétamide et on mélange immédiatement.

#### ▪ Solution témoin

En parallèle, nous avons préparé le témoin en ajoutant à 0,5 g d'oxyde de magnésium 2 ml de solution à 10 ppm de plomb. L'ensemble est séché à l'étuve à 100-105 °C. Dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'essai, nous avons procédé à la calcination, à la reprise chlorhydrique, à l'addition d'ammoniac, puis à celle d'acide acétique jusqu'à l'addition de réactif au thioacétamide.

### **IV .1.3.3 Cendres sulfuriques**

Un creuset de platine a été préparé pour cette étude, chauffé au rouge pendant 30 min et pesé après refroidissement dans un dessiccateur. Dans ce dernier, nous avons introduit 1,0 g de la substance à examiner et 2 ml d'acide sulfurique. Le mélange est chauffé prudemment sur une flamme nue jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches. La calcination est réalisée à 600 °C environ jusqu'à disparition des particules noires.

Après refroidissement, on pèse à nouveau le creuset et on calcule le pourcentage de résidu. Si la quantité du résidu ainsi obtenue dépasse la limite indiquée, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique, puis le chauffage et l'incinération sont réalisés comme précédemment pendant une période de 30 min jusqu'à ce que le pourcentage de résidu soit conforme à la limite prescrite.

### **IV .1.4 Dosage**

Nous avons dissout 0,2 g de naproxène dans 25 ml d'eau distillée et 75 ml de méthanol. Le point de fin de titrage est déterminé par pH-métrie en utilisant une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 M en présence de 1ml de la solution de phénolphtaléine.

## IV .2 Partie II : dosage du naproxène dans le comprimé

### IV .2.1 Mise au point de la méthode et optimisation des conditions

Le but est de fixer les meilleures conditions opératoires qui permettent le dosage du naproxène dans le comprimé. Plusieurs diluants ont été testé dans le but d'optimiser les meilleurs conditions pour le dosage du naproxène dans le comprimé ; ils sont composés essentiellement de :

- Mélange de tampon phosphate  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (50 mM) pH 6.8/ MeOH (v/v) (50/50)
- Méthanol MeOH
- Hydroxyde de sodium NaOH (0,1M)
- Hydroxyde d'ammonium  $\text{NH}_4\text{OH}$  (0,2M)

Les spectres sont enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre de type SECOMAM-UVLINE 9400 dans le domaine UV allant de 200 à 400 nm. On utilise des cuves en quartz de trajet optique 1 cm.



**Figure 5.** Spectrophotomètre UV-Visible.

### IV .2.2 Protocole de validation de la méthode du dosage du naproxène dans le comprimé

La validation de la méthode de dosage de naproxène dans le comprimé dosé à 275 mg par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet est réalisée selon les lignes directrices de l'ICH. Afin de garantir la fiabilité et la traçabilité des résultats fournis, la validation est fondée sur un certain nombre de critères qui font appel à l'outil statistique. Pour cela il faut vérifier la linéarité, la spécificité, l'exactitude et la précision de la méthode.



#### IV .2.2.1 Spécificité (1)

Nous disposons d'une solution composée de tous les excipients appelé placebo (benzoate de sodium, menthol, acide fumarique, chlorure de sodium, glycérine, sorbitol, glycérine, sucre, lauryl sulfate de sodium, arôme et émulsion de siméthicone) à l'exception du principe actif (NPX). Nous avons tracé la courbe d'absorption dans le domaine UV allant de 200 à 400 nm et mesurer l'absorbance du placebo à 331 nm.

#### IV .2.2.2 Linéarité

L'étude de la linéarité est réalisée sur le principe actif seul (le NPX). L'intervalle de concentration à valider est couvert par une série de cinq concentrations, régulièrement espacées : 50, 75, 100, 125 et 150 % de la concentration théorique du naproxène. Ces solutions sont indépendantes et sont réalisées à partir de pesées différentes, comme indique le tableau 2.

**Tableau 2.** Préparation des solutions pour la linéarité.

N° de la solution	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
[PA] en %	50	75	100	125	150
Poids du PA (mg)	137,5	206,25	275	343,75	412,5
Qsp diluant tampon phosphate/MeOH (ml)	250	250	250	250	250
Dilution (ml)	5 ml de la SM dans 50 ml de diluant				
[PA] en (µg/ml)	55	82,5	110	137,5	165

On mesure l'absorbance de chaque solution cinq fois et dans le même jour.

#### IV .2.2.3 Spécificité (2)

L'étude de la spécificité est faite simultanément sur la forme pharmaceutique reconstituée c'est-à-dire des solutions surchargées en excipients, sauf la substance à analyser qui sera ajoutée en quantité variable (55-165 µg/ml). Ce paramètre permet ainsi d'effectuer une comparaison directe avec la linéarité obtenue précédemment.

Le protocole suivi lors de la préparation de ces solutions est décrit dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Préparation des solutions pour la spécificité.

N° de la solution	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
[PA] en %	50	75	100	125	150
Poids de PA (mg)	137,5	206,25	275	343,75	412,5
Excipient (mg)	195	195	195	195	195
Qsp diluant tampon phosphate/MeOH (ml)	250	250	250	250	250
Dilution (ml)	5 ml de la SM dans 50 ml de diluant				
[PA] en (µg/ml)	55	82,5	110	137,5	165

Les solutions précédemment préparées sont filtrés à travers une membrane millipore à 0,45 µm. L'absorbance de chaque solution est mesurée cinq fois à l'aide d'un spectrophotomètre UV.

#### IV .2.2.4 Fidélité

Nous avons effectué deux séries de quatre mesures par deux manipulateurs sur deux jours différents. Les solutions de la fidélité sont préparées à partir du produit fini à 100% en PA. Après le broyage de 20 comprimés de NOPAIN<sup>®</sup>, nous avons transféré l'équivalent d'un seul comprimé dans une fiole de 250 ml contenant 50 ml de diluant et compléter avec le même solvant. Après, nous avons transféré 5ml de cette solution dans une fiole de 50 ml. Les solutions sont filtrées avant la mesure de son absorbance (à travers les filtres millipore de 0,45 µm).

#### IV .2.2.5 Exactitude

La détermination de ce paramètre ne nécessite pas de manipulations. Les données sont issues de la fidélité.

#### IV .2.2.6 Robustesse

Dans notre cas, nous avons vérifié l'influence du pH et de la longueur d'onde sur l'absorbance du principe actif.

- Le pH est modifié entre: 6,6 ; 6.8 et 7
- La longueur d'onde ( $\lambda$ ): 329 ; 331 et 333 nm.

**IV.2.2.7 Stabilité**

La solution à 100 % utilisée dans la linéarité est divisée en deux, la première moitié a été maintenue à 4°C, la seconde à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été effectué à des temps précis.

# *Chapitre V*

## *Résultats et Discussion*

## V .1 Partie I : Identification, recherche des impuretés et dosage du naproxène dans la matière première selon les normes de la pharmacopée.

### V .1.1 Identification

#### V .1.1.1 Pouvoir rotatoire spécifique

Le pouvoir rotatoire spécifique peut être employé pour vérifier la pureté d'un énantiomère. Cette méthode est moins sensible que la chromatographie chirale mais elle nous donne une idée sur la présence ou non de l'autre énantiomère.

La valeur obtenue est :  $[\alpha]_{\lambda}^T = 60,32^{\circ} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^3$

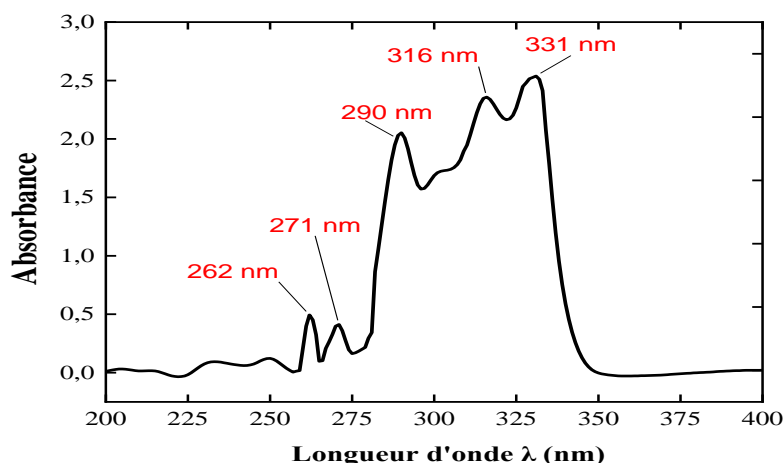
D'après les normes de la monographie du naproxène ( $+59 \leq \alpha \leq +62$ ), le pouvoir rotatoire spécifique est compris entre les deux valeurs limites, ce résultat est conforme aux normes exigées.

#### V.1.1.2 Point de fusion

Le point de fusion du naproxène dans laquelle cette substance passe de l'état solide à l'état liquide est égal à 157°C. Notre résultat est conforme aux normes de la pharmacopée européenne 6<sup>ème</sup> édition (154 °C et 158 °C).

#### V.1.1.3 Spectroscopie d'absorption UV

Le spectre UV obtenus entre 200 et 400 nm d'une solution de naproxène à 40 µg/ml dans du méthanol est présenté dans la figure 6. On peut constater la présence de plusieurs pics d'absorption dont les plus importants sont à 331 nm, 316 nm et 290 nm. Les deux autres pics sont moins importants à 271 nm et à 262 nm, ce qui correspond aux données existantes dans la monographie de la Ph. Eur.



**Figure 6.** Spectre d'absorption UV du NPX.

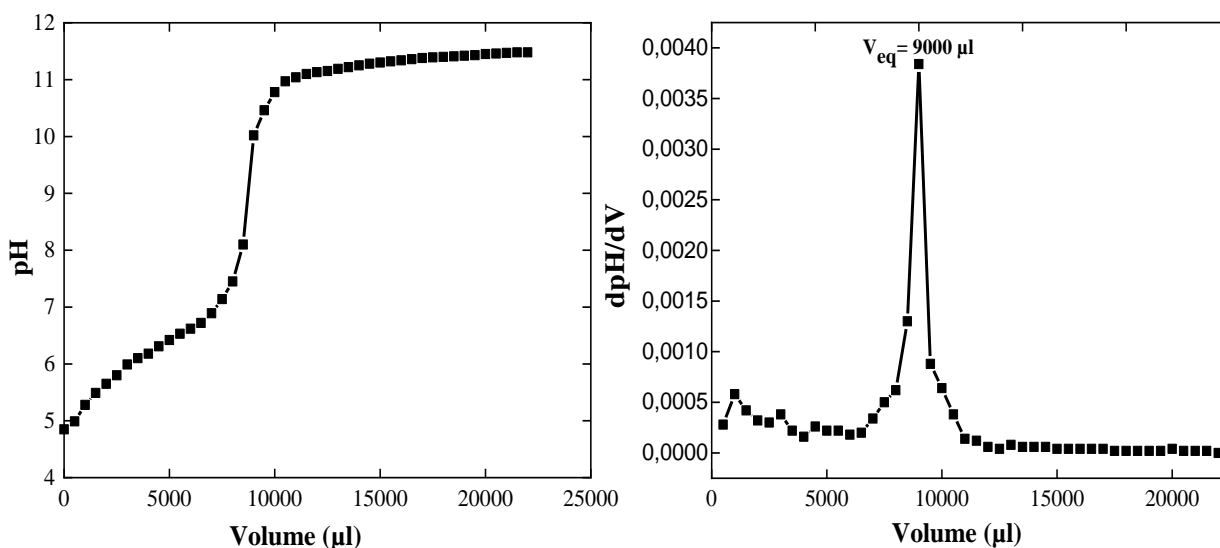
### V.1.2 Essai

#### V.1.2.1 Perte à la dessiccation

La valeur trouvée est égale à 0,1 %. La limite d'acceptabilité ne doit pas être supérieure à 0,5 pour cent, donc le test est déclaré conforme selon les normes de la pharmacopée Européenne.

### V.1.3 Dosage

La méthode du dosage potentiométrique permet de déterminer la teneur de la matière première en principe actif. Il s'agit ici d'un titrage acido-basique, le point d'équivalent a été déterminé en appliquant la méthode graphique. Le volume à l'équivalence  $V_{eq}$  est obtenu facilement après la dérivation de la courbe de titrage présenté dans la figure 7.



**Figure 7.** Courbes typiques de titrage acido-basique et de son dérivé du naproxène.

D'après la monographie de la Ph. Eur 1 ml d'hydroxyde de sodium 0,1 M correspond à 23,03 mg de  $C_{14}H_{14}O_3$ .

Le volume trouvé est :  $V_{eq} = 9$  ml

La prise d'essai corrigé : 207,27 mg

Après le calcul, la teneur de la matière première en naproxène est 100,9 %

Selon la Pharmacopée, la matière première du naproxène doit contenir au minimum 99 % et au maximum 101,0 % du principe actif. La valeur trouvée est de 100,9 % du principe actif alors le résultat est conforme.

### Récapitulation des paramètres physico-chimiques de la matière première

Les résultats du contrôle physico-chimique du naproxène comme matière première, sont conformes aux normes définies par la Pharmacopée Européenne.

Les résultats des différents tests de la pharmacopée réalisés sur la matière première du naproxène sont regroupés dans le tableau 4. Le lot de la matière première précédemment contrôlé est destiné à la fabrication du produit fini.

**Tableau 4.** Résultats du contrôle physico-chimique de la MP du NPX.

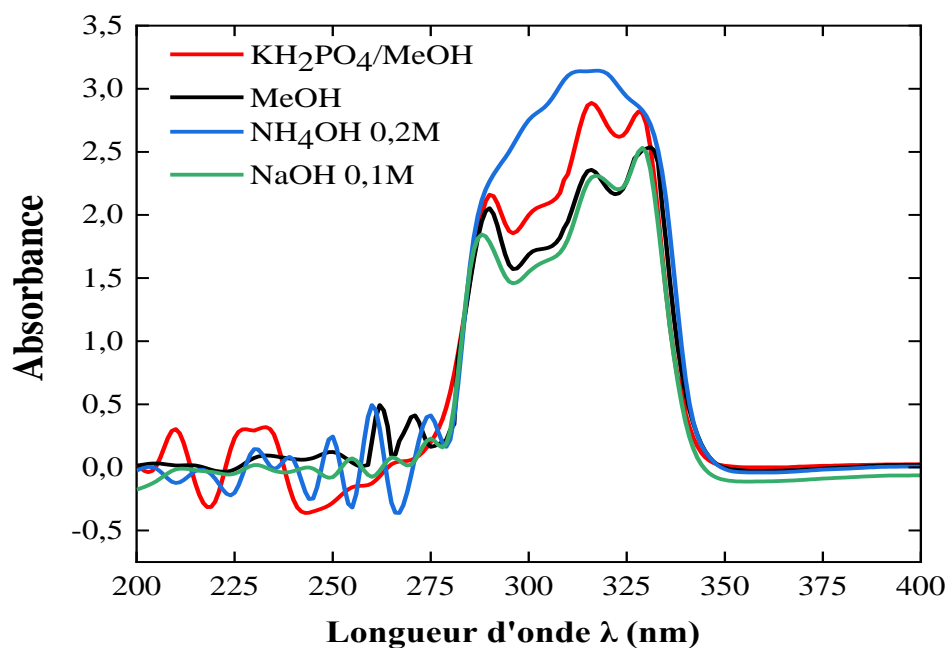
	Test	Valeur trouvée	Normes	Résultats
<b>Identification</b>	Pouvoir rotatoire spécifique	60,32°.dm <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> .cm <sup>3</sup>	+ 59 à + 62	Conforme
	Point de fusion	157°C	154 °C à 158 °C	Conforme
	Spectroscopie d'absorption UV	331 nm ; 316 nm ; 290nm	$\lambda_{\max}$ = 331 nm ; 316 nm ; 290 nm	Conforme
<b>Essai</b>	Perte à la dessiccation	0,1 %.	Au maximum 0,5 %	Conforme
	Métaux lourds	< 20 ppm	Au maximum 20 ppm	Conforme
	Cendres sulfuriques	0,08 %	Au maximum 0,1 %	Conforme
<b>Dosage</b>	Dosage acido-basique	100,9 %	99 à 101,0 %	Conforme

## V.2 Partie II : Dosage du naproxène dans le comprimé

### V.2.1 Mise au point de la méthode et optimisation des conditions

Les spectres du naproxène obtenus entre 200 et 400 nm dans différents diluants montrent la présence de plusieurs pics d'absorption dont les plus importants sont à 331 nm et à 316 nm avec le mélange (tampon phosphate / méthanol), l'éthanol et l'hydroxyde de sodium (figure 8). Le troisième pic moins important, est à 290 nm.

Seule la solution ammoniacale ne présente pas de pic d'absorbance caractéristique. Tous les autres diluants présentent trois pics d'absorbance dans le domaine UV. Nous avons donc sélectionné le plus important pic pour les trois diluants et déterminer les absorbances correspondantes. Dans notre cas, la longueur d'onde d'absorption maximale choisie est 331 nm.



**Figure 8.** Spectres d'absorption du naproxène obtenus dans différents diluants.

La Figure 8 montre aussi la superposition du spectre du naproxène dans le méthanol (en noir) avec celui obtenu avec l'hydroxyde de Na (en vert). Concernant le spectre obtenu avec le mélange tampon phosphate et méthanol, il apparaît que le pic d'adsorption présente un effet hyperchrome remarquable comparativement avec les autres diluants. Pour cette raison notre choix porte sur le mélange KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et méthanol comme solvant de dilution.



**Tableau 5.** Conditions expérimentales choisies pour l'analyse par UV.

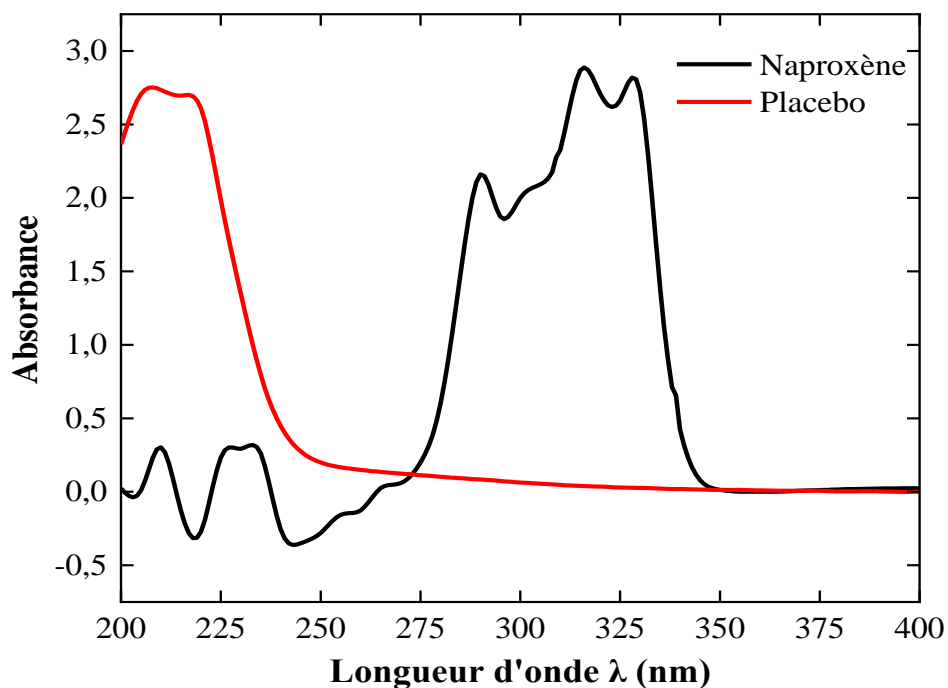
Diluant	Tampon phosphate $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (50 mM) pH 6,8/ MeOH (v/v) (50/50 )
$\lambda_{\text{max}}$	331 nm

### V.2.2 Validation de la méthode du dosage du naproxène dans le comprimé

Nous avons vérifié les critères habituels de validation qui sont : la linéarité, la spécificité, la fidélité, l'exactitude, la limite de détection, la limite de quantification et la robustesse. En plus de ces critères, nous avons réalisé une épreuve de stabilité pour juger des possibilités de conservation des solutions de naproxène.

#### V .2.2.1 Spécificité (1)

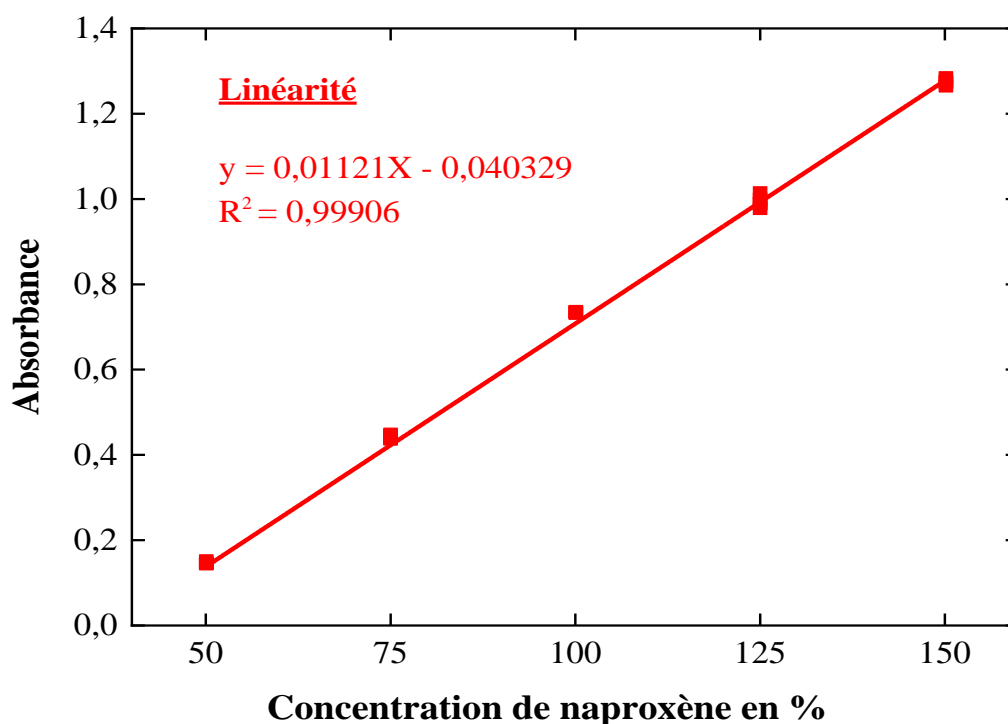
L'examen visuel des spectres relatifs au placebo et au principe actif (NPX) (figure 9), montre l'absence de pic d'absorbance maximale dans le domaine de longueur d'onde choisie ( $\lambda_{\text{max}} = 331 \text{ nm}$ ) dans le placebo ce qui implique l'absence d'interférence entre le naproxène et les autres constituants de la formulation. La méthode est donc spécifique.

**Figure 9.** Spectres obtenus avec le placebo et le naproxène.

### V .2.2.2 Linéarité

La linéarité de la méthode est vérifiée sur cinq points de la gamme d'étalonnage dans le domaine de concentrations allant de 55-165 µg/ml en naproxène (figure 10).

La droite de régression exprimant les absorbances de naproxène en fonction de la concentration du PA (figure 10) est établie sur cinq points de gamme (chaque point de la gamme est une moyenne issue d'une série de cinq valeurs).



**Figure 10.** Courbe d'étalonnage pour le dosage de naproxène par spectrophotométrie UV.

#### a) Détermination de la droite de régression et calcul de ses paramètres

La première étape consiste à déterminer, en utilisant la méthode des moindres carrés, la droite de régression ajustée au plus près des mesures effectuées. Celle-ci aura pour fonction :

$$y = ax + b$$

Pour vérifier la linéarité de la méthode, le coefficient de corrélation, la pente moyenne et l'ordonnée à l'origine ont été déterminés pour les essais intra-journaliers pour le naproxène. Les résultats sont regroupés dans le tableau 6.

**Tableau 6.** Paramètres de la courbe d'étalonnage.

Domaine de linéarité ( $\mu\text{g/ml}$ )	55-165
Pente	$0,01121 \pm 0,00879$
Ordonnée à l'origine	$-0,040329 \pm 0,00744$
Coefficient de corrélation ( $R^2$ )	0,99906

Le coefficient de corrélation ( $R^2 = 0,99906$ ) voisin de l'unité suggère une excellente linéarité de la réponse du spectrophotomètre dans la gamme de concentration choisie.

#### b) Calcul du biais

Les concentrations des standards de validation ont été calculées à partir de la courbe obtenue, ce qui a permis d'obtenir pour chaque niveau de concentration le biais relatif moyen, les limites de tolérance supérieures et inférieures des valeurs attendues au niveau.

$B_j$  : exprime le pourcentage du rapport de concentration calculée et la valeur de concentration théorique, il est donné par la relation suivante :

$$B_j = \frac{X'_j}{X_j} \times 100$$

$X'_j$  : Valeurs calculées

$X_j$  : Valeurs théoriques

Le biais moyen :

$$\bar{B} = \frac{\sum_j B_j}{N}$$

Les résultats obtenus lors de l'étude de la linéarité sont regroupés dans le tableau 7.

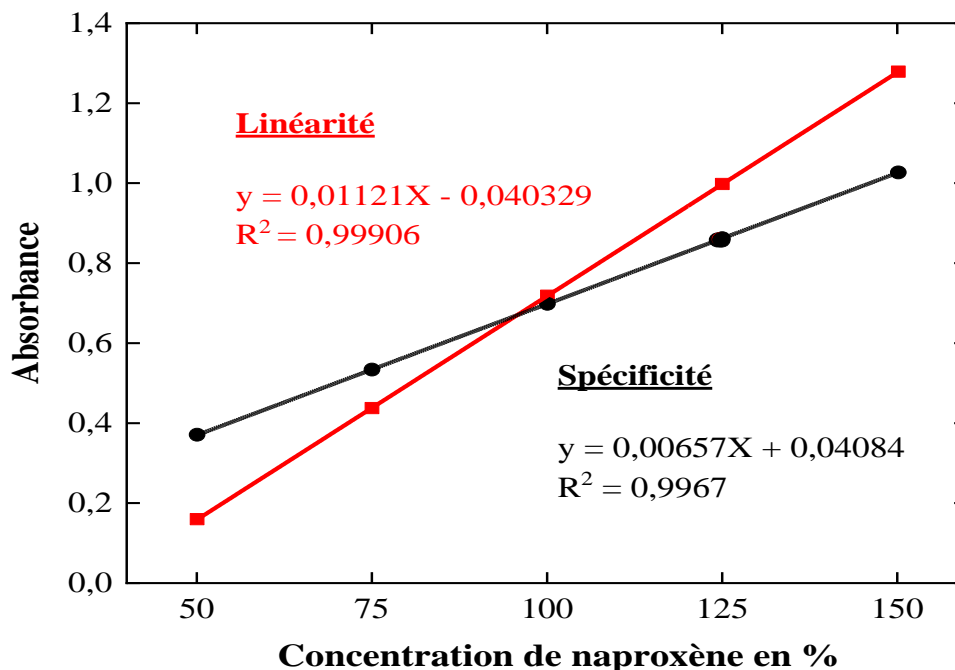
**Tableau 7.** Résultats de l'étude de la linéarité.

C théorique%	C expérimentale%	y <sub>i</sub> (y)	X <sub>i</sub> '(y)%	B <sub>j</sub> (y)
50	50,07	1,45E-01	48,91079	97,68483
		1,51E-01	49,44603	98,75381
		1,46E-01	49	97,86299
		1,45E-01	48,91079	97,68483
		1,46E-01	49	97,86299
75	75,02	4,39E-01	75,13738	100,15646
		4,37E-01	74,95897	99,91864
		4,44E-01	75,58341	100,75101
		4,45E-01	75,67261	100,86992
		4,48E-01	75,94023	101,22665
100	100,07	7,32E-01	101,27475	101,20391
		7,36E-01	101,63158	101,56049
		7,36E-01	101,63158	101,56049
		7,35E-01	101,54237	101,47134
		7,34E-01	101,45317	101,3822
125	125,02	1,014E+00	126,43087	101,12851
		9,88E-01	124,11151	99,27332
		9,9E-01	124,28992	99,41603
		1E+00	125,18198	100,12956
		9,78E-01	123,21945	98,55979
150	150,15	1,265E+00	148,82159	99,11528
		1,265E+00	148,82159	99,11528
		1,284E+00	150,5165	100,24409
		1,276E+00	149,80285	99,7688
		1,273E+00	149,53524	99,59057
La moyenne du biais		<b>99,85167</b>		

Le biais moyen pour le naproxène est de 99,85 %, cette valeur appartient à l'intervalle [99,0-101,0 %] préconisé par la pharmacopée donc, l'usage d'une seule solution de référence est par conséquent suffisant pour les analyses en routine.

### V.2.2.3 Spécificité (2)

En ce qui concerne la quantification, la spécificité de la méthode consiste à s'assurer que la molécule présente des caractéristiques identiques qu'elle soit seule ou en présence d'autres analytes. Elle est estimée lors de la comparaison des droites obtenues avec la matrice reconstituée et celles obtenues pour le produit seul.



**Figure 11.** Spécificité de la méthode de dosage de naproxène.

D'après la figure 11, nous remarquons que les deux droites sont presque superposables ce qui veut dire qu'il n'y a pas d'interférence d'excipients ( $R^2 = 0,9967$ ). La méthode utilisée est bien spécifique.

### V.2.2.4 Fidélité

La fidélité fournit une indication sur les erreurs dues au hasard. Elle a été estimée en calculant la répétabilité et la fidélité intermédiaire à chaque niveau de concentration utilisé en validation.

- La répétabilité étudie les variations très faibles entre les mesures d'un même échantillon durant un intervalle du temps très court, par exemple une journée.
- La fidélité intermédiaire représente les variations obtenues lorsque les analyses sont faites sur des jours différents mais dans un même laboratoire.

Les résultats de la fidélité sont regroupés dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Résultats d'étude de la fidélité de naproxène dans le comprimé.

	Yi				RSD <sub>intra</sub>	RSD <sub>inter</sub>	RSD <sub>total</sub>
Jour 1 manipulateur 1	100,93	101,2	101,46	101,19	1,597	0,861	0,697
Jour 1 manipulateur 2	100,79	100,66	100,93	101,06			
Jour 2 manipulateur 1	100,8	101,06	101,2	101,06			
Jour 2 manipulateur 2	102,93	102,80	102,93	102,93			

Les RSD intra et inter jour et le RSD total sont inférieurs à 2 %. La méthode est bien fidèle.

#### V.2.2.5 Exactitude

L'exactitude fournit une indication sur les erreurs systématiques. Elle est calculée à partir des résultats de la fidélité et présente l'écart du pourcentage de récupération par rapport à 100 %.

Le pourcentage de récupération est calculé comme suit :

$$PR = \frac{Y_m}{\text{valeur de référence}} \times 100$$

$Y_m$ : valeur moyenne de tous les résultats (de Y').

Y' : la moyenne de chaque série

PR : pourcentage de récupération.

**Tableau 9.** Résultats de l'étude de l'exactitude du NPX.

	Yi				LI	PR	LS	Exactitude
<b>J1, M1</b>	100,93	101,2	101,46	101,19	101,189	101,193	101,197	1,193
<b>J1, M2</b>	100,79	100,66	100,93	101,06				
<b>J2, M1</b>	100,8	101,06	101,2	101,06				
<b>J2, M1</b>	102,93	102,80	102,93	102,93				

$$LS = PR + t_{0,975} \frac{S_Y}{\sqrt{m}}$$

$$LI = PR - t_{0,975} \frac{S_Y}{\sqrt{m}}$$

$t_{0,975}$  : Coefficient de Student = 3,182 pour un intervalle de confiance à 95 % et  $m = 4$

Comme le pourcentage de récupération est bien compris entre les deux limites et la valeur de la précision n'excède pas les 2 % alors on peut conclure que notre méthode d'analyse est exacte.

#### V .2.2.6 Limite de détection (LOD)

La limite de détection est la plus faible concentration du médicament qui peut être différenciée du bruit de fond mais pas nécessairement quantifiée. Cela se fait en fonction des lectures tirées de la courbe d'étalonnage. La LOD est calculée à partir de la courbe d'étalonnage comme suit :

$$LOD = 3,3 \sigma / S$$

Où :  $\sigma$  est l'écart type de l'ordonnée à l'origine et S est la pente de l'étalonnage

La valeur trouvée est : 5,37  $\mu\text{g/ml}$ .

#### V .2.2.7 Limite de quantification (LOQ)

La LOQ représente la plus faible concentration dans un échantillon qui puisse être quantifiée avec une fidélité et une justesse acceptables dans des conditions expérimentales indiquées.

$$LOQ = 10 \sigma / S$$

La valeur trouvée est : 16,32  $\mu\text{g/ml}$ .

### V.2.2.8 Robustesse

La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des modifications faibles, délibérées, de facteurs associés à la procédure. Ce caractère permet d'appliquer la méthode analytique sous différentes conditions (pH,  $\lambda$  etc.) et donne une indication de la fiabilité de la procédure dans les conditions normales d'application.

#### V .2.2.8.1 Variation du pH

Nous avons fixé la valeur du pH à 6,6 ; 6,8 et 7, sans modification des autres paramètres, et effectué l'analyse. Comme montre le tableau, les coefficients de variation relatifs restent dans les normes ( $CV \leq 2\%$ ).

**Tableau 10** : Variation du pH.

	<b>pH 6.6</b>	<b>pH 6.8</b>	<b>pH 7</b>
<b>Moyenne</b>	0,7596	0,7316	0,75
<b>SD</b>	0,00207	0,00631	$7,07107 \cdot 10^{-4}$
<b>CV</b>	0,27251	0,86249	0,09428

#### V .2.2.8.2 Variation de la longueur d'onde

Après modification de la longueur d'onde à trois valeurs (329 ; 331 et 333 nm), sans modification des autres paramètres, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 11.

**Tableau 11** : Variation de la longueur d'onde.

	<b><math>\lambda = 329</math> nm</b>	<b><math>\lambda = 331</math> nm</b>	<b><math>\lambda = 333</math> nm</b>
<b>Moyenne</b>	0,6902	0,7316	0,62
<b>SD</b>	0,00631	0,00292	0,00292
<b>CV %</b>	0,91422	0,39912	0,47096

Les CV obtenues dans les conditions précédemment prescrites sont dans les normes exigées (inférieur à 2 %) ; ce qui vérifie la robustesse de la méthode développé.



## V .2.2.9 Stabilité

Selon le protocole établi dans la partie expérimentale, l'étude de la stabilité des solutions préparées est résumée dans le tableau 12.

**Tableau 12.** Stabilité des solutions préparées.

	Temps	Absorbance Moy de NPX	Concentration de NPX en %
<b>Température</b>	<b>Jour 0</b>	<b>0,789</b>	<b>100,00</b>
<b>25°C</b>	Jour 1	0,797	101,01
	Jour 2	0,834	105,70
	Jour 3	0,870	110,26
<b>4°C</b>	Jour 1	0,776	98,40
	Jour 2	0,771	97,71
	Jour 3	0,767	97,26
	Jour 4	0,760	96,32

Au vu de la norme retenue par l'ICH (2,5 %), il apparaît que la solution est stable pendant 2 jours à 4 °C et 1 jour à 25 °C.

*Conclusion*

*Générale*

## *Conclusion générale*

---

Notre étude a permis de démontrer que la spectroscopie ultraviolet-visible était une technique analytique exacte pour l'identification et la quantification du naproxène dans une formulation pharmaceutique. Dans ce travail, nous rapportons l'apport des techniques analytiques dans le dosage du naproxène (matière première et le produit fini).

Nous avons tout d'abord vérifié la qualité de la matière première utilisée. Plusieurs tests physico-chimiques ont été effectués dans le but d'identifier et de quantifier le principe actif. Le NPX utilisé a été conforme aux normes de la monographie.

Dans le cas du produit fini, le NPX a été quantifié par spectrophotométrie. La méthode proposée est basée sur la dissolution du naproxène dans un mélange tampon phosphate et méthanol. L'absorbance maximale a été mesurée à 331 nm.

La loi de Beer–Lambert est respectée pour des concentrations allant de 55 à 165 µg/ml de naproxène. Le coefficient de régression obtenus était hautement significatif ( $R^2 = 0,99906$ ).

Le biais moyen est de 99,85 %, ce qui permet l'utilisation d'une seule solution de référence pour l'analyse en routine. L'absence de pic interférent met en évidence la spécificité satisfaisante de la méthode. Les coefficients de variation obtenus ( $RSD_{intra}=1,597$  et  $RSD_{inter}=0,86$ ) ainsi que le pourcentage de récupération ( $PR = 101,93$  %) conformes aux normes, évaluant respectivement la fidélité et l'exactitude sont satisfaisants.

Les paramètres facultatifs de la validation, la mesure de la robustesse a été réalisée sur des faibles variations du pH ainsi que de la longueur d'onde à laquelle a été mesurée l'absorbance de la solution. Des résultats satisfaisants ont été obtenus. La stabilité des solutions préparées a été mesurée à température ambiante et à 4 °C. Les solutions se sont révélées stables respectivement pendant 1 et 2 jours, respectivement.

Sur le plan de la sensibilité, notre méthode présente une limite de détection de 5,37 µg/ml. Dans ces conditions, notre limite de quantification est 16,32 µg/ml.

Conformément à l'exigence de l'ICH, la méthode de dosage du naproxène par spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultraviolet est jugée spécifique, linéaire, exacte et fidèle. Cela permis de conclure que la méthode est validée et peut être appliquée au dosage du naproxène dans le comprimé.

*Références*

*Bibliographiques*

## Références Bibliographie

---

- Aiache, J. M., Cardot, J. M., Hoffart, V. (2011).** *Médicaments et autres produits de santé.* France : Masson.
- Aiache, J-M., Beyssac, E., Cardot, J-M et al. (2001).** *Initiation à la connaissance du médicament.* Paris : Masson.337.
- Amina, B. (2018).** Contrôle qualité physico-chimique Application aux matières premières «Expandol 500 et 1000 mg».
- Azzouz, L. (2019).** Contrôle qualité matière première/produit fini.
- Bauer, M. (2001).** *Analyse des solvants résiduels dans les produits pharmaceutiques.* Ed. Techniques Ingénieur.
- Benameur, H., Arroudj, C., Bouchal, F. (2016).** *Etude d'un procédé de microencapsulation par émulsification d'un principe actif anti-inflammatoire et caractérisation biopharmaceutique* (Doctoral dissertation, Université Abderrahmane Mira-Bejaia).
- Bouabidi, A. (2013).** Etude Critique des Différentes Approches de Validation des Méthodes Analytiques », thèse de doctorat, Faculté des Sciences Ben M'Sik, université Hassani II Mohamed, Casablanca, Maroc.
- Camara, A. (2013).** Etude rétrospective du contrôle de qualité des antirétroviraux au Laboratoire National de la Santé du Mali (LNS) de 2009 à 2012.
- Camut, A. (2009).** *Mise en place du contrôle terminal des préparations d'anticancéreux injectables par spectrométrie UV-visible-IRTF, Multispec® à l'Unité de Pharmacie Clinique et Cancérologique de l'Hôpital Bon Secours de Metz: aspects analytiques et organisationnels* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- Caporal-Gautier, J., Nivet, J. M., Algranti, P et al. (1992).** Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP. I: Méthodologie. *STP Pharma pratiques*, 2(4), 205-226.
- Caron, A. (2006).** *Larousse médical*, Larousse, Paris.
- Chabbout, O., Hafsi, S. (2013).** Etude de l'adsorption d'une amine sur le quartz.
- Chan, C., Lee, Y., Lam, H., Zhang, X. (2004).** *Analytical method validation and instrument performance verification.* John Wiley & Sons.
- Chapter, G. (2011).** 231> Heavy Metals. *United States Pharmacopeia 34–National Formulary*, 29.
- Dangoumau, J., Moore, N., Molimard, M et al. (2006).** Pharmacologie générale. *Université Victor Segalen-Bordeaux*, 2, 129-130.
- Davies, N., Anderson, K. (1997).** Clinical pharmacokinetics of naproxen. *Clinical pharmacokinetics*, 32(4), 268-293.

## Références Bibliographie

---

- Dharmalingam, S. R., Ramamurthy, S., Siddhardh, S et al (2017).** Bioanalytical Method Development and Validation of Naproxen: Application to Bioequivalence Studies. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL QUALITY ASSURANCE*, 8(02), 49-53.
- Eichelbaum, M., & Gross, A. S. (1996).** Stereochemical aspects of drug action and disposition. In *Advances in drug research* (Vol. 28, pp. 1-64). Academic Press.
- Ermer, J., Miller McB, J. H. (2005).** Method validation in pharmaceutical analysis. Federal Republic of Germany.
- European Medicines Association. (1995).** Note for guidance on validation of analytical procedures: text and methodology (CGMP/ICH/381/95); ICH topic Q2 (R1). *European Medicines Association, London, United Kingdom.*
- Feinberg, M. (2007).** Validation of analytical methods based on accuracy profiles. *Journal of Chromatography A*, 1158(1-2), 174-183.
- GlaxoSmithKline. (2011).** Direction de la Communication GSK/Carré Noir.
- Gomez, Y., Adams, E., Hoogmartens, J. (2004).** Analysis of purity in 19 drug product tablets containing clopidogrel: 18 copies versus the original brand. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 34(2), 341-348.
- Grünfeld, J. (1994).** Dictionnaire de médecine Flammarion. *Médecine-Sciences.*
- Hubert, P., Nguyen-Huu, J., Boulanger., B et al.(2004).** Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures. A SFSTP proposal--Part I. *J Pharm Biomed Anal.* 15;36(3):579-86.
- Hubert, P., Nguyen-Huu, J., LAURENTIE, M et al. (2003).** Validation Des procédures analytiques quantitatives harmonisation des démarches. *STP Pharma pratiques*, 13(3), 101-138.
- Huynh-Ba, K. (2008).** *Handbook of stability testing in pharmaceutical development: regulations, methodologies, and best practices.* Springer Science & Business Media.
- Katzung, B. (2006).** Pharmacologie fondamentale et clinique.
- Kuss, D. (2010).** *Gestion intégrée de rejets d'assainissement: applicabilité de la mesure de pollution par spectrophotométrie UV/Visible et des techniques d'identification de système* (Doctoral dissertation, Strasbourg).
- Logeais, M. (2013).** *Optimisation de la productivité des méthodes analytiques de contrôle d'un médicament* (Doctoral dissertation).
- Loi n° 08-13. (2008).** l'article L.5111.1 du Code de la santé publique [1] puis dans l'article 1 du Code Communautaire : [2] modifiant et complétant la loi n° 85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé.

## Références Bibliographie

---

- Maxwell, W., Sweeney, J. (1994).** Applying the validation timeline to HPLC system validation. *LC GC*, 12(9), 678-682.médicaments 2619. P. 811-813.
- Mehta, P., Sharma, C. S., Nikam, D., Ranawat, M. S. (2012).** Development and validation of related substances method by HPLC for analysis of naproxen in naproxen tablet formulations. *International Journal of pharmaceutical sciences and drug research*, 4(1), 63-69.
- Meyer, R., Denier, C et Biasini, G. (1996).** Spectroscopie pratique dans le domaine du visible et de l'ultraviolet. *Bull. Um. Phys*, 784, 895-908.
- Neal, M. (2017).** *Pharmacologie médicale*. 6e éd : De Boeck Supérieur.
- Organisation mondiale de la santé. (1998).** Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques : recueil de directives et autres documents; vol.1.
- Pharmacopée européenne 8.0. (2013).** Monographies générales : Production des médicaments 2619. P.811-813.
- Rouessac, F., Rouessac, A., Cruché, D., Duverger-Arfulso, C., Martel, A. (2019).** *Analyse chimique-9e éd.: Méthodes et techniques instrumentales*. Dunod.
- Sahoo, N. K., Sahu, M., Rao, P. S., Ghosh, G. (2014).** Development and Validation of Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy/Mass Spectroscopy Method for Quantitative Analysis of Naproxen in Human Plasma after Liquid-Liquid Extraction. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9), 1503-1510.
- SALEY, L. M. M. (2013).** *Développement et validation d'une méthode de dosage du diclofénac sodique par UV-visible: Essais de décontamination par des adsorbants naturels*.
- Stora, D. (2008).** *Pharmacie et surveillance infirmière* (éd. 5). (Lamarre, Éd.)
- Swarbrick, J. (2007).** *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology : Volume 6*. Crc Press.
- Talbert, M. (1998).** *Guide pharmacologique*, LAMMARIE ,3éd, Paris.
- Vaubourdoille, M. (2007).** *Toxicologie, sciences mathématiques, physiques et chimiques*. Wolters Kluwer France.

## Développement et validation d'une nouvelle méthode du dosage d'un principe actif dans une forme pharmaceutique

### Résumé

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) représentent la classe thérapeutique la plus prescrits dans le monde en raison de leurs propriétés antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. Parmi lesquels on trouve le naproxène.

Plusieurs méthodes analytiques ont été reportées pour doser le naproxène dans la matière première et le produit fini. Dans un premier stade, la matière première du NPX a été contrôlée selon les normes de la Ph. Eur. Plusieurs tests physico-chimiques ont été effectués pour identifier et quantifier le principe actif dans la matière première. Le NPX utilisé a été conforme aux normes de la monographie.

La spectrophotométrie UV est la méthode de choix pour doser le naproxène dans les comprimés. La méthode a été validé conformément aux lignes directrices de l'ICH et elle été appliqué avec succès pour l'analyse en routine de naproxène dans le comprimé.

**Mots clés :** Naproxène, anti-inflammatoire, spectrophotométrie UV, ICH, validation.

### Abstract

Non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) represent the most prescribed therapeutic class in the world due to their analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties. Among which we find naproxen.

Various methods have been described for the analysis of naproxen in pharmaceutical substance and in pharmaceutical preparations. In the first step, the pharmaceutical substance of NPX was checked according to the standards of the Ph. Eur. Various physicochemical tests have been carried out to identify and quantify the active principle in the pharmaceutical substance. The NPX used conformed to the standards of the monograph.

The spectrophotometry UV is the method of choice for the analysis of naproxen in pharmaceutical tablets. The method has been validated according to the ICH guidelines and has been successfully applied for the routine analysis of naproxen in pharmaceutical tablets.

**Keywords:** Naproxen, anti-inflammatory, spectrophotometry UV, ICH, validation.

### ملخص

تمثل مضادات الالتهاب غير الستيرويدية أكثر الفئات العلاجية الموصوفة في العالم نظرًا لخصائصها المسكنة والخافضة للحرارة والمضادة للالتهابات. من بين هذه الأدوية نجد النابروكسين.

هناك العديد من الطرق التحليلية التي تم اعتمادها من أجل معايرة هذا المركب في المادة الأولية و الناتج النهائي. في المرحلة الأولى، تم فحص المادة الأولية للنابروكسين وفقًا لمعايير الدستور الصيدلاني الأوروبي. تم إجراء العديد من الاختبارات الفيزيائية والكيميائية لتحديد ومعايرة هذا المركب في المادة الأولية. يتوافق النابروكسين المستخدم مع معايير الدراسة المتفق عليها.

تقنية قياس الطيف الضوئي بالأشعة فوق البنفسجية هي الطريقة التي تم اختبارها لمعايرة النابروكسين في الأقراص وقد تم التحقق من صحة هذه الطريقة وفقًا لمعايير ICH حيث تم تطبيقها بنجاح للتحليل الروتيني للنابروكسين في القرص.

**الكلمات المفتاحية :** النابروكسين، مضادات الالتهاب غير الستيرويدية، الطيف الضوئي بالأشعة فوق البنفسجية، ICH، التحقق.



