

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université A.MIRA de Bejaia**  
**Faculté De Technologie**  
**Département de génie des procédés**



# Mémoire de fin d'études

**En vue de l'obtention du diplôme de master**

**En Sciences et Technologies des Médicaments**

## Thème

**Validation de la méthode de dosage du paracétamol dans le produit fini IXPRIM (paracétamol/ tramadol).**

**Soutenu le :02 /07/2013**

**Réalisé par :**

**M<sup>elle</sup> HAMICHE Leila**

**M<sup>elle</sup> BOUSSEKINE Fatima**

**Membres du jury :**

**Président: M<sup>r</sup>. FATMI**

**Encadreur : S.BOUBEKER**

**Encadreur : H.DJIDJELLI**

**Examineur : M<sup>me</sup>. BELKACEMI**

**Promotion : 2012-2013**

## **Remerciements**

Nous remercions en premier lieu Dieu de nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à Monsieur H.Djidjelli pour avoir dirigé ce mémoire, nous lui exprimons toute notre reconnaissance pour nous avoir initiées et accompagnées tout au long de notre travail et pour la confiance qu'il nous a accordée durant cette période de préparation du mémoire. Ses compétences, sa rigueur scientifique et sa disponibilité n'ont cessé de nous motiver pour l'accomplissement de ce travail. Il a également été d'un précieux conseil pour répondre à nos diverses interrogations et pour la rédaction de ce mémoire.

Nous remercions chaleureusement mesdames et messieurs les membres du jury d'avoir accepté de consacrer de leur temps pour juger ce travail.

Nos remerciements vont aussi à notre encadreur au niveau du CRD/SAIDAL M<sup>elle</sup> Sihem BOUBEKER.

Nos remerciements également vont à tout le personnel de SAIDAL pour leur accueil chaleureux.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents pour leur amour, patience, confiance, éducation et sacrifice, et sans leurs soutiens je ne serais pas arrivé à ce que je suis.*

*Mon très cher frère et mes très chères sœurs ainsi que Athmane, Meriem et Amine;*

*Mes oncles, tantes, cousins et cousines ;*

*Tous mes amis (es) et tous ceux qui me sont chers ;*

*Mes copines de chambre ;*

*Ma binôme Fatima et sa famille ;*

*Toute ma promotion.*

*A tous ce qui me connaisse de prêt et de loin.*

*Leila.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents pour leur amour, patience, confiance, éducation et sacrifice, et sans leurs soutiens je ne serais pas arrivé à ce que je suis.*

*Mes très chers frères ;*

*Mon très cher mari et sa famille ;*

*Mes oncles, tantes, cousins et cousines ;*

*Tous mes amis (es) et tous ceux qui me sont chers ;*

*Mes copines de chambre ;*

*Ma binôme Leila et sa famille ;*

*Toute ma promotion.*

*A tous ce qui me connaisse de prêt et de loin.*

*Fatima.*

## Sommaire

### A- Partie théorique :

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

### **Chapitre 1 : Généralité sur le paracétamol**

I-1- Historique .....	2
I-2- Présentation d'IXPRIM .....	3
I-3- Chimie du paracétamol .....	4
I-4- Mécanisme d'action et devenir dans l'organisme.....	8
I-5- Formes galéniques.....	9
I-6- Indications .....	10
I-7- Posologie.....	10
I-8- Informations pratiques.....	10
I-9- Contre-indications.....	11
I-10- Précaution d'emploi.....	11
I-11- Effets indésirables.....	11
I-12- Surdosage.....	12
I-13- Dose toxique.....	12
I-14- Association avec d'autres produits chimiques.....	13
I-14-1- Avantages de l'association des antalgiques oraux.....	13
I-14-2- Le tramadol .....	14

### **Chapitre II : La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)**

II-1-Introduction .....	17
II-2- Historique .....	17
II-3- Principe .....	17
II-4- Classification .....	18
II-5- Les différents types de chromatographie .....	18
II-6- Résultat .....	19
II-7- description de l'appareil .....	20

---

II-8- Notion de base.....	21
---------------------------	----

### **Chapitre III : Généralités sur les méthodes de validation**

III- 1- Définition de la validation.....	23
III-2- Critères de la validation.....	23
III-2-1- Spécificité.....	24
III-2-2- Linéarité.....	24
III-2-3- Exactitude.....	24
III-2-4- Fidélité.....	24

### **Chapitre IV : Formules de calcul.....26**

#### **B- Partie expérimentale :**

#### **Chapitre IV : Matériels et méthodes**

IV-1- Appareillage.....	29
IV-2- Réactifs utilisés.....	29
IV-3- Mode opératoire.....	29
IV-4- Formule de calcul.....	30
IV-5- Validation de la méthode.....	31

#### **Chapitre V : Résultats et discussions**

V-1- Spécificité.....	33
V-2- Linéarité.....	33
V-3- Exactitude.....	36
V-4- Fidélité.....	37
V-5- Conclusion.....	38
V-6- Application au produit fini.....	38

<b>Conclusion générale.....</b>	<b>41</b>
---------------------------------	-----------

**Aucune entrée de table des matières n'a été trouvée.**

## Liste des figures :

<b>N° :</b>	<b>Titre de la figure</b>
<b>1</b>	Structure chimique du paracétamol
<b>2</b>	Représentation plane du paracétamol
<b>3</b>	Représentation à trois dimensions
<b>4</b>	Formule chimique des deux énantiomères du chlorhydrate du tramadol
<b>5</b>	Exemple D'un Chromatogramme
<b>6</b>	Système classique de HPLC
<b>7</b>	Chromatogramme d'essai d'injection d'étalon paracétamol/tramadol.
<b>8</b>	Chromatogramme d'essai d'injection de produit fini paracétamol/tramadol.



## Liste des tableaux :

N° :	Titre des tableaux
1	Propriétés physico-chimique du paracétamol
2	Résumé des différents types de chromatographie
3	Critères de la validation selon le type d'analyse
4	Niveaux de fidélité par l'ICH
5	Les surfaces des pics à différentes concentration.
6	Paramètres de la droite de régression.
7	Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec l'ordre de zéro.
8	Résultats de test d'homogénéité des variances.
9	Résultats d'existence d'une pente significative.
10	Résultats de test de validité de la droite de régression.
11	Résultats de test d'homogénéité des variances.
12	Résultats de test de validité des moyennes.
13	Estimation du recouvrement moyen.
14	Les surfaces des pics à la concentration de 0.325mg/ml.
15	Les surfaces des pics à la concentration de 0.325mg/ml des trois jours.
16	Résultats de test d'homogénéité des variances.
17	Variances des critères de la fidélité.

Liste d'abréviation :

- HPLC : Haute Performance of Liquide Chromatographie.
- UV : Ultra- Violet.
- IV : Intraveineuse.
- COX : Cyclo-Oxygénase.
- POX : Peroxydase.
- AINS : Anti-inflammatoire Non Stéroïdiens.
- OMS : Organisation Mondiale de la Sante.
- ICH : International Conférence Harmonisation.

## Glossaire médicale :

- **Catadioptrique** : Qui se rapporte à un rayon lumineux à la fois réfléchi et réfracté.
- **Choc anaphylactique** : Choc dramatique marqué par une contraction des muscles lisses, une augmentation de la perméabilité capillaire avec hémorragie et oedème.

Il s'observe toujours dans les mêmes conditions : d'abord sensibilisation par un antigène avec fabrication d'anticorps, puis choc proprement dit à la suite d'un nouveau contact (dit déclenchant) avec l'antigène.

- **Glutathion** : Tripeptide composé de cystéine, d'acide glutamique et de glycolle. Il passe facilement de façon réversible de la forme oxydée à la forme réduite, sous laquelle il joue un rôle important dans le transport de l'hydrogène.
- **Glycuroconjugaison** : syn : glucuroconjugaison. Processus de détoxification grâce auquel l'organisme inactive et élimine les substances qui se sont formées au cours des processus métaboliques, en les conjuguant avec l'acideglucuronique. SYN.
- **Hépatite** : Affection inflammatoire du foie.
- **Méthémoglobinémie** : Présence de méthémoglobine dans le sang, dont le taux normal ne dépasse pas 130 mg/dL (20  $\mu$ mol/L). Une quantité excessive de méthémoglobine sanguine provoque des manifestations pathologiques qui associent cyanose, vertiges, céphalées et parfois anémie hémolytique.
- **Noradrénaline** : Substance du groupe des catécholamines, qui agit comme neurotransmetteur central et dans les terminaisons adrénergiques du système nerveux végétatif ; la noradrénaline est également sécrétée par la médullosurrénale. Elle se différencie de l'adrénaline par l'absence du groupement N-méthyle, d'où le nom de nor (non-radical)-adrénaline ; par méthylation, elle peut être transformée en adrénaline. Elle possède des effets biologiques similaires à ceux de l'adrénaline, stimulant les récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques. Elle peut être administrée par voie intraveineuse dans le traitement de collapsus. Syn : norépinéphrine.
- **Porphyrie** : Nom d'ensemble d'un groupe d'affections héréditaires due à une anomalie du métabolisme des porphyrines par déficit enzymatique spécifique, dont divers dérivés sont éliminés par l'urine et les selles. Leurs manifestations cliniques sont diverses, essentiellement cutanées. Selon le siège de l'anomalie on distingue les porphyries hépatiques et les porphyries érythropoïétiques.

- **Prostaglandine** : Nom d'ensemble d'une série de composés appartenant au groupe des acides gras non saturés à 20 atomes de carbone, possédant une structure cyclique à cinq atomes de carbone au milieu de la molécule (cycle pentanique), divers groupements polaires et un nombre variable de doubles liaisons. Les prostaglandines sont dérivées de l'acide arachidonique
- **Purpura**: Taches cutanées rouges, constituées par de petites extravasations sanguines sous-cutanées. Ces taches ne s'effacent pas à la pression. Le purpura est un symptôme observé dans diverses maladies. Il peut être lié à une thrombopénie ou à une fragilité vasculaire.
- **Sérotonine** : par les plaquettes sanguines. Elle a une action vasoconstrictrice et stimulante sur le péristaltisme intestinal. La sérotonine est un médiateur chimique dans les phénomènes d'hypersensibilité immédiate et au niveau du système nerveux central. Syn. 5-Hydroxy-tryptamine..
- **Sulfoconjugaison** : Mécanisme de détoxification de certaines molécules (dérivés phénoliques) qui se combinent à l'acide sulfurique. Certaines hormones sont ainsi éliminées sous forme de sulfoconjugués (sulfate de déhydroépiandrostérone par exemple)

# Introduction générale

## **Introduction générale :**

L'impulsion de l'industrie pharmaceutique en Algérie reste assujettie aux capacités des entreprises nationales du médicaments à maîtriser les normes scientifiques et les techniques les plus appropriées nécessaires au développement du médicament générique.

Plus particulièrement, le groupe SAIDAL opte pour le médicament générique ; ce dernier présente l'avantage d'alléger le temps et les coûts de la recherche et du développement, tout en sachant qu'il s'agit d'un médicament et que des exigences réglementaires régissent sa mise sur le marché.

C'est dans ce cadre que le Centre de Recherche et de Développement d'El-Harrach (CRD/SAIDAL) nous a proposé la mise au point et la validation d'une méthode de dosage du principe actif (paracétamol) dans les comprimés d'IXPRIM fabriqué par AVENTIS.

Dans ce travail ; la méthode d'analyse utilisée est la chromatographie plus exactement l'HPLC, une méthode pertinente, rapide et plus précise que les méthodes classiques utilisés (UV, FTIR).

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de chimie analytique du CRD/SAIDAL, il a comporté deux parties :

- Une partie bibliographique élaborée à partir d'informations utiles et de données concernant la méthode d'analyse et ainsi que la validation.
- Une partie pratique qui regroupe la mise au point de la méthode d'analyse, la validation, l'application de la méthode et l'interprétation des résultats.

Nous terminons ce travail par une conclusion générale.

# Partie Théorique

# chapitre I: Généralités sur le paracétamol



## I-1- Historique :

L'utilisation d'antipyrétiques remonte à l'Antiquité : depuis cette époque, les décoctions de feuilles de saule sont réputées pour leurs vertus contre la fièvre et les douleurs, notamment chez les Égyptiens. Plus tard, vers 400 avant J.-C., Hippocrate, selon qui « la nature est le médecin des malades », recommandait une tisane de feuilles de saule pour soulager les douleurs de l'accouchement et faire baisser la fièvre. Les Romains connaissaient aussi ses propriétés. Cette utilisation s'est poursuivie de manière empirique jusqu'au XVIII<sup>e</sup> siècle.

Les antipyrétiques utilisés à cette époque étaient des préparations à partir de composés naturels d'écorces de cinchona dont dérive la quinine, ou à partir de salicylate contenu dans l'écorce de saule. L'écorce de cinchona devint rare et chère et le besoin de trouver des substituts apparut. Harmon Northrop Morse synthétisa dès 1878 une substance baptisée acétylaminophénol, sans toutefois lui attribuer une quelconque propriété médicale : c'est seulement cinquante ans plus tard qu'elle fut commercialisée comme médicament sous le nom de paracétamol. À cette époque, d'autres produits sont utilisés comme remède contre la douleur et la fièvre : en 1882, Hoechst commercialise le Kairin découvert par Otto Fisher [1], en 1897, l'aspirine est synthétisée par Felix Hoffmann et connaît un grand succès. L'acétanilide (1886) et la phénacétine (1887) sont aussi utilisés jusqu'à se révéler être des produits présente d'effets secondaires graves et que les inconvénients de l'aspirine commencent à être connus. Le paracétamol réapparaît alors et les premières études sur les propriétés antipyrétique et antalgique du paracétamol sont conduites à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle.

À la fin des années 1880, l'industrie des colorants avait un déchet, le paranitrophénol, avec une structure chimique assez similaire à l'acétanilide et disponible à bas prix. Carl Duisberg, responsable de la recherche et des brevets chez Bayer AG (Friedrich Bayer & Co), demanda à son équipe de trouver une exploitation intéressante pour le paranitrophénol. Oscar Hinsberg eut l'idée de le transformer en acétophénitidine. La démarche de création de cette substance fut purement commerciale et par chance, des tests montrent qu'elle semble plus puissante que l'antifébrine et provoque moins d'effets indésirables. Duisberg décide de mettre la nouvelle molécule en production et de la commercialiser à partir de 1888 sous le nom de marque « phénacétine » [1].

L'antifébrine et la phénacétine n'ayant pas la même rapidité ni la même durée d'action permettaient aux praticiens d'ajuster leurs prescriptions.

Cependant, l'acétanilide est très toxique et de nombreuses recherches se consacrent sur l'élaboration de dérivés mieux tolérés. Le paracétamol fut trouvé dans les urines des personnes ayant consommé de la phénacétine. En 1889, le scientifique allemand Karl Morner découvre qu'un fragment de la phénacétine, l'acétaminophène, est un produit efficace contre la douleur et la fièvre. Une étude métabolique de ce médicament montre qu'il s'agit d'un métabolite déséthylé de la phénacétine. Cette hypothèse fut formulée dès 1894, mais fut largement ignorée à l'époque [2]. En 1893, un médecin allemand, Joseph von Mering, compare les propriétés antalgiques et antipyrétiques du paracétamol et de la phénacétine ainsi que leurs toxicités respectives. Il tire de cette étude la conclusion, erronée, que le paracétamol est plus néphrotoxique que la phénacétine : la notoriété de Von Mering fera que ce jugement ne sera pas contesté si bien que le paracétamol sera délaissé pendant un demi-siècle. La phénacétine sera largement employée dans les névralgies sous le nom de Véganine. La toxicité de la phénacétine pour le rein sera démontrée par la suite, entraînant son retrait du marché.

Julius Axelrod démontre en 1948 que l'acétanilide est dégradé dans l'organisme en N-acétyl p-aminophénol (ou paracétamol), métabolite possédant une activité antalgique et mieux toléré que ce que l'on croyait jusqu'alors.

Ils démontrent également que l'administration d'acétanilide est responsable de la formation de méthémoglobine, mais ils ajoutent que l'agent responsable est peut-être la phénylhydroxylamine, et non pas le paracétamol comme on le croyait auparavant. Ils suggèrent donc aux industriels de remplacer l'acétanilide, responsable de la méthémoglobinémie, par l'acétaminophène. Il y a alors un regain d'intérêt pour le paracétamol, du fait de ses propriétés antalgiques et antipyrétiques, et de son apparente bonne tolérance [3].

## **I-2- Présentation d'IXPRIM<sup>®</sup> :**

IXPRIM<sup>®</sup> se présente sous forme de comprimé pelliculé de couleur jaune pâle. Pour un comprimé :

- **Principes actifs** : paracétamol : 325 mg ;  
Chlorhydrate de tramadol : 37.5 mg.

- **Excipients** :

- Noyau : cellulose en poudre, amidon pré-gélatinisé, carboxyméthylamidon sodique, amidon de maïs, stéarate de magnésium.
- Pelliculage : opadry jaune YS-1-6382 G, (hypromellose, dioxyde de titane (E 171), macrogol 400 oxyde de fer jaune (E 172), polysorbate 80), cire de carnauba.

IXPRIM<sup>®</sup> ne comprend pas d'excipients à effets notoire (EEN).

✓ **Conditionnement et conservation :**

Les comprimés sont conditionnés sous plaquette thermoformée prédécoupée pour dispensation unitaire (polypropylène/ aluminium) en boîte de 20 comprimés pour l'officine et l'hôpital.

La durée de conservation du produit fini dans son conditionnement commercial est fixée à 36 mois dans des conditions normales de conservation. [4]

✓ **IXPRIM<sup>®</sup> à trois sites d'actions :**

- Action opioïde faible,
- Action mono-aminergique par inhibition de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline.
- Action inhibitrice modeste sur la synthèse des prostaglandines et augmentation du seuil de la douleur. [5].

### **I-3- Chimie du paracétamol :**

**a) Structure et réactivité :**

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

La formule du paracétamol :

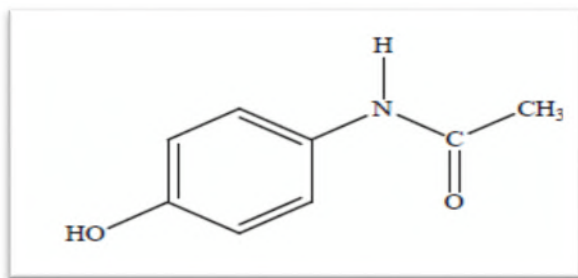


Figure.1. Structure chimique du paracétamol [6].

Les représentations planes du paracétamol à trois dimensions sont [6] :

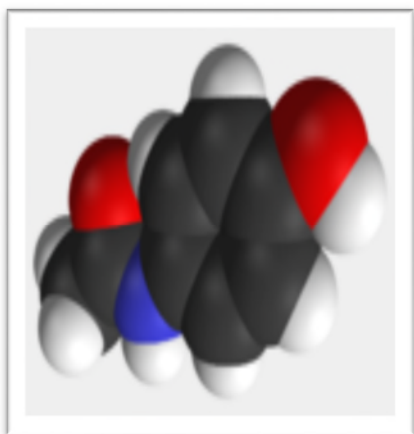


Figure.2. Représentation plane  
du paracétamol.

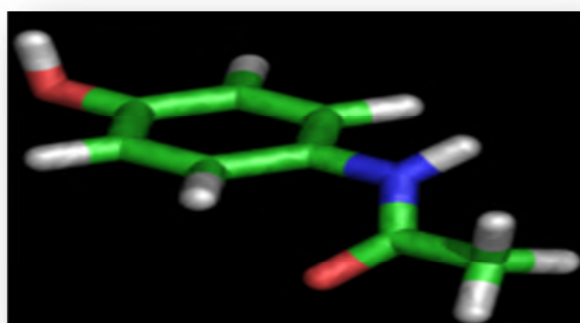


Figure.3. Représentation à trois dimensions.

Le paracétamol ne comporte pas de carbone asymétrique et n'a pas de stéréo-isomère. Un des deux doublets libres de l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle, le cycle benzénique, le doublet libre de l'atome d'azote et l'orbitale p du carbone du carbonyle forment un système conjugué. Cette conjugaison réduit la basicité des oxygènes et de l'azote et rend le groupement hydroxyle plus acide (comme les phénols) car la délocalisation des charges s'effectue sur un ion phénolate.

La présence de deux groupements actifs rend le cycle hautement réactif pour une substitution électrophile aromatique, les substituants étant ortho et para directeurs. Toutes les positions du cycle sont plus ou moins activées de la même manière et il n'y a donc pas de site privilégié dans le cas d'une substitution électrophile. Le paracétamol est le métabolite actif de l'acétanilide et de la phénacétine : le paracétamol est produit par la décomposition de ces deux produits dans l'organisme. Ces espèces chimiques sont de la même famille chimique et ont une structure chimique très proche. [7]

**b) Identification du paracétamol :**

Tableau.1. Propriétés physico-chimique du paracétamol [2].

<b>Propriétés chimiques</b>	
Formule brute :	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub> (isomères)
Masse molaire :	150 g/mol
pKa :	9.5
<b>Propriétés physiques :</b>	
Température de fusion :	169 à 170 °C
Température d'ébullition :	Décomposition > 500 °C
Masse volumique :	1.293g/cm à 21 °C
Température d'auto-inflammation :	≥180 °C

**c) Données pharmacocinétiques :**

Biodisponibilité : proche de 100% ;

Métabolisme : hépatique à 95% ;

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

Excrétion : urinaire.

**d) Considérations thérapeutiques :**

Classe thérapeutique : antalgique, antipyrétique.

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

Grossesse : autorisé.

Précautions : toxicité hépatique à fortes doses.

Antidote : N-acétylcystéine. [7]

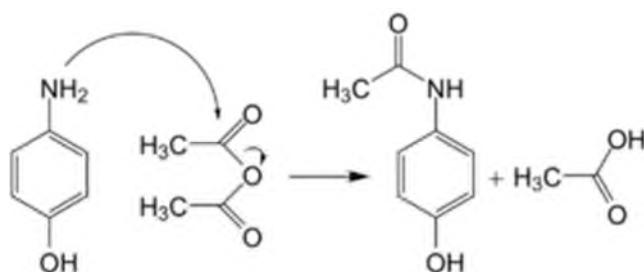
- **La solubilité :**

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

- **La stabilité :**

Le paracétamol est stable dans l'eau, mais sa stabilité diminue en milieu acide ou basique. Les mélanges de paracétamol sont stables dans des conditions humides. [3]

e) **Synthèse :**



Synthèse du paracétamol : l'acylation du para-aminophénol avec l'anhydride acétique donne du paracétamol et de l'acide acétique.

Le paracétamol ne comprend pas de centre chiral et n'a aucun stéréo-isomère. La synthèse n'a pas besoin d'être stéréo-contrôlée et elle est plus simple que les synthèses asymétriques d'autres substances pharmaceutiques.

Le paracétamol fut synthétisé pour la première fois en 1878 par Harmon Northrop Morse. La première étape est la réduction du para-nitrophénol en para-aminophénol en présence d'étain dans de l'acide acétique glacial. Le para-aminophénol obtenu est ensuite acylé par l'acide acétique pour obtenir du paracétamol. Vignolo simplifia cette synthèse en utilisant le para-aminophénol comme produit de départ. Une seule étape d'acylation est nécessaire pour obtenir le produit désiré, ce qui raccourcit la synthèse. Plus tard, Friedlander modifia la synthèse en faisant l'acylation du para-aminophénol à partir de para-nitrophénol avec de l'anhydride acétique au lieu de l'acide acétique, ce qui donne un meilleur rendement.

Équation de la synthèse :  $C_4H_6O_3 + C_6H_7NO \rightarrow C_8H_9NO_2 + CH_3COOH$ . [1]

**f) Autres dénominations :**

- Acetaminophen (nom utilisé dans les pays anglo-saxons)
- Acétyl paraminophénol, acétyl-p-amino-phénol, hydroxy-4' acétanilide, para-acétamidophénol, para-acétamino-phénol, N-acétyl-para-aminophénol.

**I-4- Mécanisme d'action et devenir dans l'organisme :****a) Mécanisme d'action :**

Le mécanisme d'action complet du paracétamol reste inconnu, un siècle après sa découverte [6]. Cependant, il a été démontré qu'il agit principalement au niveau du système nerveux central [8]. Selon une étude de 2006, le paracétamol agirait en inhibant au niveau central la production de prostaglandines, impliquées dans les processus de la douleur et de la fièvre, par le biais d'une action inhibitrice sur l'enzyme prostaglandine H<sub>2</sub> synthase (PGHS), qui comporte notamment un site actif « cyclo-oxygénase » (ou COX), cible de la majorité des AINS, et un site « peroxydase » (ou POX), sur lequel agirait le paracétamol. Le paracétamol n'aurait pas d'action directe sur le COX-1 et le COX-2, les deux formes de COX sur lesquelles agissent les AINS comme l'aspirine ou l'ibuprofène. On soupçonne l'existence d'une nouvelle iso-enzyme, le COX-3 (enzyme produite par épissage successif de la COX-1 entraînant un décalage de lecture des bases par le corps humain), sur laquelle agirait spécifiquement le paracétamol et qui expliquerait pourquoi le paracétamol réduit la fièvre et la douleur tout en étant dénué d'activité anti-inflammatoire et antiplaquettaire. Pour l'instant, cette hypothèse n'a pas été prouvée chez l'homme [9]. D'autres mécanismes d'action ont été évoqués pour expliquer l'activité analgésique et antipyrétique du paracétamol. Un mécanisme d'action sérotoninergique central est suspecté depuis quelque temps. Le paracétamol potentialiserait l'effet des neurones sérotoninergiques descendants de la moelle épinière exerçant un contrôle inhibiteur sur les voies de la douleur. Par ailleurs, le paracétamol pourrait agir en limitant la libération de Béta-endorphines [10].

Les recherches récentes montrent que l'ion peroxy-nitrite pourrait être la source oxydante permettant aux COX de transformer l'acide arachidonique en prostaglandine. De même que la nitrotyrosine est un marqueur spécifique de l'excès de peroxy-nitrites agissant comme agent nitrant sur le cycle phénolique activé de la tyrosine, le nitroparacétamol formé par nitration

directe du paracétamol par les peroxy-nitrites les consommerait et permettrait d'annihiler la synthèse des prostaglandines [11].

### **b) Pharmacocinétique :**

Les différentes voies d'élimination du paracétamol sont la glycoconjugaison et la sulfoconjugaison, menant à la N-acétyl p-benzoquinone imine, responsable de la toxicité, et aboutissant au 3-hydroxyparacétamol.

L'absorption du paracétamol par voie orale est complète et rapide : le maximum de concentration plasmatique est atteint entre 15 minutes (comprimé effervescent) et 30–60 minutes (comprimé et poudre) après ingestion.

Le paracétamol se distribue rapidement dans tous les tissus. Les concentrations sont comparables dans le sang, la salive et le plasma. Le paracétamol est métabolisé (c'est-à-dire transformé) essentiellement au niveau du foie. Les deux voies métaboliques majeures sont la glycoconjugaison et la sulfoconjugaison. Il existe une voie métabolique, moins importante, catalysée par le Cytochrome p450 (plus précisément par les iso-enzymes CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4), qui aboutit à la formation d'un intermédiaire réactif toxique, la N-acétyl- p-benzoquinone imine ou NAPQI. Il est normalement rapidement éliminé par réaction avec le glutathion réduit puis évacué dans les urines après conjugaison à la cystéine et à l'acide mercaptopurique.

L'élimination du paracétamol est essentiellement urinaire : 90 % de la dose ingérée est éliminée par le rein en 24 heures, principalement sous forme glycoconjuguée (60 à 80 %) et sulfoconjuguée (20 à 30 %) et moins de 5 % est éliminé sous forme de paracétamol. La demi-vie d'élimination est d'environ 2 heures [12].

### **I-5-Formes galéniques :**

Le paracétamol entre dans la composition d'une soixantaine de spécialités pharmaceutiques et peut se présenter sous différentes formes ou conditionnements. Le paracétamol seul est vendu sous de nombreuses formes galéniques comme des comprimés (Dafalgan, Doliprane, Efferalgan, Tylenol), des comprimés effervescents (Claradol, Dafalgan, Doliprane, Efferalgan, Panadol), des comprimés orodispersibles (DolipraneOro, EfferalganOdis), des gélules (Dafalgan, Doliprane), du sirop (Oralgan), des suspensions buvables, des



suppositoires pour adultes (Dafalgan, Doliprane, Dolko) ou enfants, ou des lyophilisats (Paralyoc). Il est aussi disponible sous forme intraveineuse (Perfalgan). [9]

### **I-6- Indications :**

Le paracétamol est utilisé pour :

- Le traitement symptomatique des douleurs aiguës ou chroniques, d'intensité légère à modérée. Il s'agit d'un antalgique de palier 1 selon la classification de l'OMS. Il peut être utilisé seul ou en association avec d'autres antalgiques (codéine, tramadol, acide acétylsalicylique, ibuprofène), il rentre alors dans la classification des antalgiques de palier 2 indiqués dans les douleurs d'intensité modérée à intense ou ne répondant pas à l'utilisation d'antalgiques périphériques seuls. [7,13]
- Le traitement symptomatique de la fièvre, en particulier chez l'enfant, il constitue l'antipyrétique de première intention [13].

### **I-7- Posologie :**

La dose ou posologie maximale peut varier d'un pays à l'autre selon la recommandation des produits de santé. En France, la recommandation est de [9] :

- Adultes : 500 à 1 000 mg par prise, en espaçant les prises de 4 heures minimum. Il n'est généralement pas nécessaire de dépasser la dose de 3 g par jour mais exceptionnellement (en cas de douleurs intenses non complètement contrôlées par 3 g par jour, et sur avis médical), on peut atteindre un maximum de 4 g par jour (soit  $4 \times 1\ 000$  mg ou  $8 \times 500$  mg).
- Enfants : La dose quotidienne recommandée est de 60 mg/kg/jour, à répartir en 4 ou 6 prises, soit environ  $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  toutes les 6 heures ou  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  toutes les 4 heures. La dose maximale est de 80 mg/kg/jour chez l'enfant de moins de 38 kg selon les recommandations officielles en France.

### **I-8- Informations pratiques :**

- Il peut être délivré en pharmacie sans ordonnance ou sur prescription médicale.

- En cas d'oubli de la dernière prise, on peut reprendre le médicament aussitôt puis continuer selon la posologie prescrite, mais en respectant un intervalle de 4 heures entre chaque prise.
- Les gélules et les comprimés sont à avaler tels quels avec une boisson comme par exemple de l'eau, du lait ou un jus de fruit.
- Pour les comprimés effervescents, boire après dissolution complète du comprimé dans un verre d'eau.

### **I-9- Contre-indications :**

Les contre-indications absolues sont l'hypersensibilité au paracétamol, l'insuffisance hépato-cellulaire sévère et la porphyrie [10].

### **I-10- Précautions d'emploi :**

Le paracétamol est autorisé en cas de grossesse et d'allaitement. Il ne provoque pas d'effets tératogènes ou fœtotoxiques durant la grossesse. Pendant la période d'allaitement, le paracétamol passe dans le lait maternel. Toutefois, les quantités excrétées dans la lactation sont inférieures à 2 % de la quantité ingérée et le paracétamol n'est donc pas contre-indiqué pendant la période d'allaitement. Il pourrait exister une relation entre la prise de paracétamol pendant la grossesse et plus spécialement au cours du premier trimestre, et le risque pour les enfants de souffrir de problèmes respiratoires ou d'asthme avant l'âge de 7 ans [12]. Perturbateur endocrinien, le paracétamol, comme d'autres analgésiques légers, peut constituer durant la grossesse un facteur de risque d'anomalies du développement de l'appareil reproducteur masculin (cryptorchidisme) [14].

Pour éviter tout risque de surdosage, il faut vérifier l'absence de paracétamol dans la composition d'autres médicaments pris de façon concomitante.

### **I-11- Effets indésirables :**

Habituellement le paracétamol est très bien toléré lorsqu'il est pris à des doses thérapeutiques [15]. 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 effets indésirables 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'autres médicaments 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. [9]

### **I-12- Surdosage :**

Le paracétamol est un médicament utilisé couramment et disponible dans les pharmacies. Les cas de surdosage sont courants, plus de 100 000 par an aux États-Unis, une centaine en Suisse, et ont des conséquences graves [16].

### **I-13- Dose toxique :**

La dose toxique du paracétamol est hautement variable selon les individus. En une prise unique, elle est de l'ordre de 10mg ou 125 mg/kg<sup>-1</sup> chez l'adulte et de 100 à 150 mg.kg<sup>-1</sup> chez l'enfant. Certains ne parlent d'intoxication aiguë que pour des doses élevées supérieures à 200 milligrammes par kilogramme, soit plus de 14 grammes pour un homme de 70 kilogrammes [17].

Cependant le paracétamol peut être toxique pour le foie, même à 4 g/24 h soit des doses thérapeutiques. Administrées sur de longues périodes, ces doses se rapprochent des doses toxiques pouvant entraîner des lésions hépatiques permanentes voire mortelles, surtout chez des patients à la fonction hépatique préalablement altérée. Comme les personnes âgées ou les patients présentant des maladies hépatiques, ou dans les cas d'alcoolisme chronique qui

provoque une induction enzymatique et une diminution des réserves de glutathion. Par contre seuls quelques rapports font état d'une toxicité du paracétamol lors de situations diminuant les réserves de glutathion, comme une infection par le VIH, une hépatite chronique C ou une cirrhose hépatique par exemple.

Ainsi sur de longues durées, la différence entre une dose thérapeutique et une dose toxique serait faible. Depuis que le paracétamol est présent dans de nombreux médicaments, mélangé à d'autres molécules, le risque de surdosage involontaire est majoré. Les prises de paracétamol doivent toujours être espacées de 4 heures au minimum. Pour éviter le surdosage, il est utile de discuter avec un pharmacien pour connaître les médicaments contenant du paracétamol ou bien de regarder la composition des médicaments pour détecter la présence de paracétamol [18, 19].

#### **I-14- Association avec d'autres produits chimiques (bithérapie) :**

L'association de deux principes actifs permet en générale, grâce à une action synergique, de diminuer le dosage de chacune des deux molécules au sein de cette association, Limitant ainsi le risque d'apparition d'effets indésirables pour la même efficacité avec chacun des deux principes actifs pris séparément.

Ainsi, dans le domaine de l'antalgie, en particulier dans le traitement des douleurs modérées à sévères, cette pratiques est fréquente. En effets, les deux classes les plus vendues d'antalgiques dits de palier II, sont constituées pour l'une de l'association de paracétamol et de dextropropoxyphène, et pour l'autre de l'association de paracétamol et de codéine.

Aussi, est apparue sur le marché, depuis le mois de mai 2003, une nouvelle association antalgique constituée du paracétamol, une fois n'est pas coutume, dosé à 325mg et de tramadol dosé à 37.5mg. Cette association est co-marketée par deux laboratoires pharmaceutiques ayant une grande expérience du marché des antalgiques de palier II : le laboratoire AVENTIS qui commercialise l'association sous le nom IXPRI<sup>®</sup> et le laboratoire Grunenthal qui le commercialise sous le nom de Zaldiar. [4]

##### **I-14-1- Avantages de l'association des antalgiques oraux:**

- Faciliter la prescription et obtenir une meilleure observance,
- Potentialiser les actions antalgiques,

- Réduire les doses de chaque principe actif et donc l'incidence de leurs effets indésirables, couvrir un large spectre de douleurs. [5].

### **I-14-2- Le tramadol :**

#### **a) Définition :**

Le tramadol est un antalgique d'action centrale utilisé depuis 1977 en Allemagne ; il a été introduit très récemment en France. Son originalité pharmacologique qui le rattache en partie aux opiacés classiques justifie sa place dans l'arsenal thérapeutique, en particulier dans le domaine de la douleur aiguë, dont la douleur postopératoire, mais aussi dans celui des algies chroniques. Enfin, les différentes présentations thérapeutiques de la molécule rendent son utilisation clinique aisée tant par voie entérale que parentérale ainsi que par voie locorégionale [20].

C'est un antidouleur dérivé de l'opium dont la consommation est en forte hausse depuis deux ans, suscite de nombreuses inquiétudes. Très efficace contre les douleurs au dos ou aux articulations, le Tramadol a des effets secondaires pouvant se révéler très graves : vomissements, désorientation, troubles du sommeil... Surtout, comme tous les dérivés d'opiacé, il peut entraîner une forte accoutumance.

Ixprim<sup>®</sup> est composé de paracétamol et de chlorhydrate de tramadol et non pas de tramadol qui est associé au chlore pour être stable.

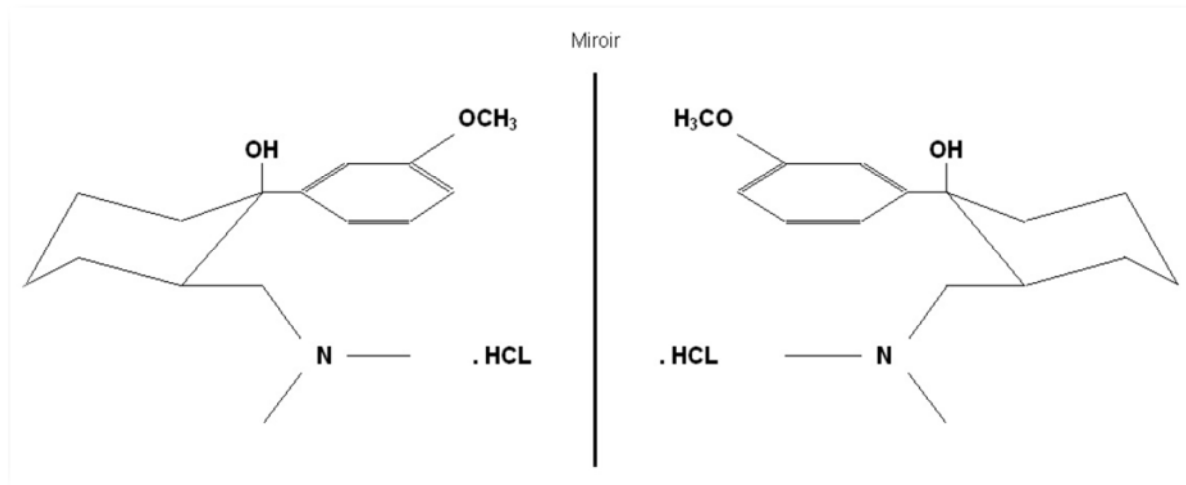
**b) La formule chimique du chlorhydrate de tramadol :**

Figure.4. Formule chimique des deux énantiomères du chlorhydrate du tramadol [20].

**c) Propriétés chimiques :**

Formule brute :  $C_{16}H_{25}NO_2$  ;

Masse molaire : 263.3752 g/mol.

**d) Données pharmacocinétiques :**

Biodisponibilité = 70% ;

Liaison protéique : 20% ;

Métabolisme : hépatique ;

Demi-vie d'élimination : 5 à 7 heures ;

Excrétion : urinaire.

**e) Considérations thérapeutiques :**

Classe thérapeutique : analgésique opioïde faible ;

Voie d'administration : orale, Intraveineuse et intramusculaire.

**f) Usages et propriétés :**

Ses modes d'actions ne sont pas encore complètement connus, en plus de son action analgésique due à sa fixation sur les récepteurs morphiniques, il semble également empêcher la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, selon les doses utilisées.

Il peut être utilisé par voie veineuse. Les doses utilisées sont de 50 à 200 milligrammes. Sa demi-vie est de cinq à sept heures, son élimination est essentiellement rénale.

Les effets secondaires sont : nausées, céphalées, vertiges, douleurs d'estomac, et hypoglycémies d'où il peut être utilisé par les diabétiques. [20].

# Chapitre II:

# La chromatographie HPLC



## II-1- Introduction :

La chromatographie est une technique d'analyse qualitative et quantitative de la chimie analytique, dans laquelle l'échantillon contenant une ou plusieurs espèces est entraîné par un courant de phase mobile (liquide, gaz ou fluide supercritique) le long d'une phase stationnaire (papier, gélatine, silice, polymère, silice greffée, etc.). Chaque espèce se déplace à une vitesse propre dépendant de ses caractéristiques et de celles des deux phases [21].

La chromatographie analytique est utilisée pour identifier les composés chimiques d'un mélange et apprécier leurs concentrations.

La chromatographie préparative est utilisée pour purifier assez de produits pour d'autres utilisations. Son but est d'obtenir la substance, c'est pourquoi, à tout échelle, elle implique de collecter des fractions [21].

## II-2- Historique :

En 1906, un botaniste russe Mikhaïl Semenovitch TSWETT purifie des pigments végétaux, comme la chlorophylle, sur une colonne de craie. Il donne alors à ce phénomène de séparation le nom de chromatographie (du grec khroma, couleur de graphein, écrire) qu'il définit comme l'enregistrement graphique des couleurs. On assiste alors à la naissance de la chromatographie, dont la définition a fortement évolué. [21]

## II-3- Principe :

La chromatographie est une technique analytique qui permet la séparation des constituants d'un mélange en phase homogène liquide ou gazeuse.

Le principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre deux phases en contact : La phase stationnaire (emprisonnée dans la colonne) et la phase mobile qui se déplace. La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants présents dans la colonne.

Ces derniers la parcourent avec des temps proportionnels à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure,..) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité, K de partage..).

A leur arrivée en bout de colonne, le détecteur mesure en continu la quantité de chacun des constituants du mélange.

## II-4- Classification :

Il existe de nombreux types de chromatographie ; on peut notamment les classer selon la nature de la phase mobile :

- La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC en anglais) également appelée CPV (chromatographie en phase vapeur) ;
- La chromatographie en phase liquide (CPL ou LC en anglais) ;
- La chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP ou HPLC en anglais) ;
- La chromatographie en phase supercritique (CPS ou SFC en anglais).

On peut aussi les nommer selon les interactions développées par la phase stationnaire :

- La chromatographie chirale (qui est, soit la CPG, soit la CPL) ;
- La chromatographie d'exclusion stérique (CES ou SEC en anglais).

Ou selon le support de la phase stationnaire :

- La chromatographie sur colonne (regroupant notamment HPLC et CPG) ;
- La chromatographie planaire (qui recouvre chromatographie sur couche mince et chromatographie sur papier). [21]

## II-5- Les différents types de chromatographie :

Tableau.2. Résumé des différents types de chromatographie [21]

Phase stationnaire	Principe de séparation	Catadioptriques de la phase stationnaire	Principe de la fixation et de l'élution
liquide	Partage	Liquide fixé sur un support inerte (papier, silice...)	Distribution des composants du mélange à séparer dans les deux phases liquides selon leur coefficient de

			partage
solide	Adsorption	Adsorbant solide polaire	Phénomène de surface : formation des liaisons spécifiques entre les composants et la surface adsorbante
	Adsorption (phase inverse)	Molécules hydrophobes greffées sur de la silice	Interactions hydrophobes et élution par diminution de la polarité de la phase mobile
	Echange d'ions	Résine (polymères d'oses) porteuse de groupements chargés négativement ou positivement	Interactions électrostatiques avec les composants de charge opposée
	Exclusion (filtration sur gel)	Solide poreux	Les composants de diamètre supérieur à celui des billes du support sont exclus et ceux de diamètre inférieur y diffusent et sont freinés.
	affinité	Support sur lequel est greffée une molécule (le ligand) spécifiquement reconnue par un des composants de l'échantillon à analyser	Déplacement de l'équilibre de liaison [molécule – ligand greffé] en faveur de l'équilibre [molécule – tierce molécule]

## II-6- Résultat :

Les analyses chromatographiques donne un chromatogramme qui représente l'évolution d'un paramètre (signal électrique provenant du détecteur) lié à la concentration instantanée du constituant élue (ou soluté), en fonction du temps. Le chromatogramme est une représentation graphique ou des pics. [21]

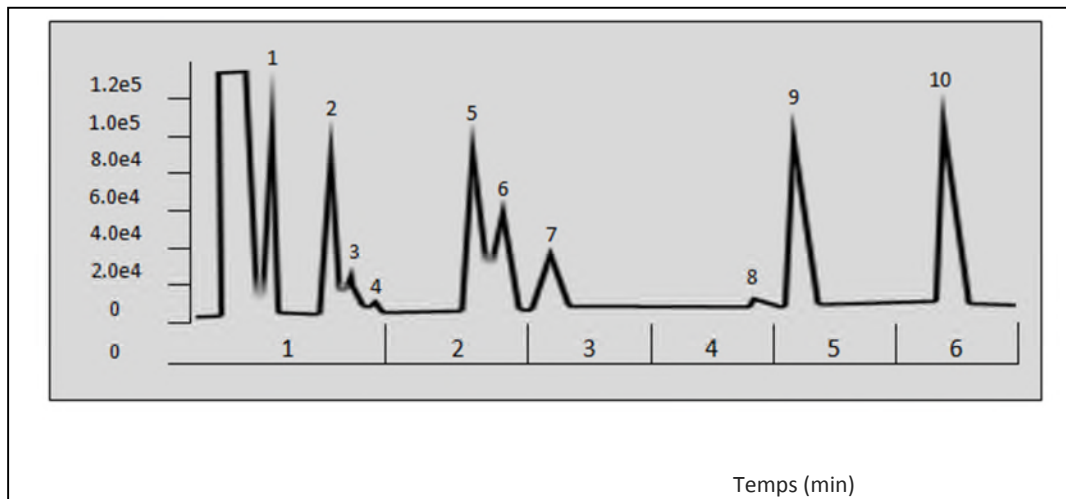


Figure.5. Exemple D'un Chromatogramme

## II-7- Description de l'appareil :

- Les appareils de Chromatographie sont constitué de :
  - D'un système d'injection de l'échantillon ;
  - D'une colonne ;
  - D'un détecteur ;
  - D'une pompe ;
  - D'un système d'enregistrement et/ou d'analyse des chromatogrammes ;
  - La pompe.

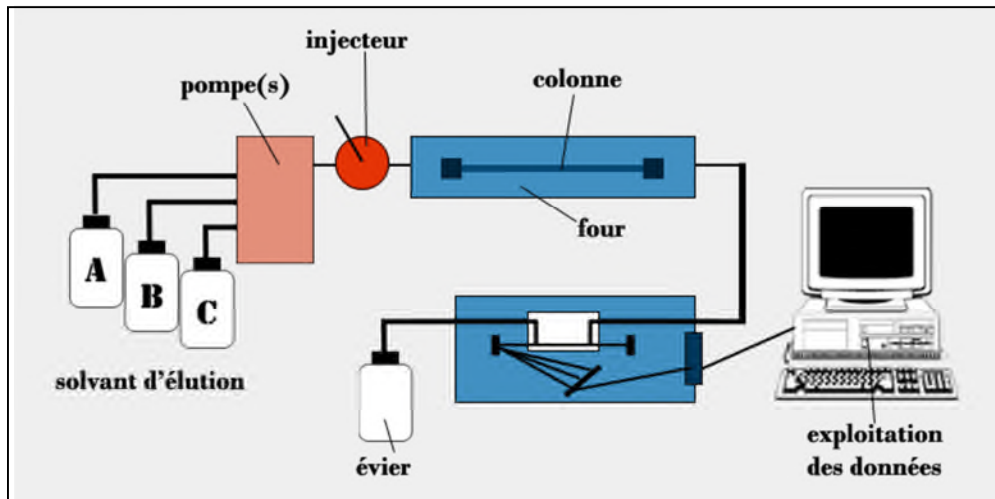


Figure.6. Système classique d'HPLC [21].

## II-8- Notion de base :

### a- Notion de temps [21]:

- **Temps mort  $T_m$  :**

Temps mis par la phase mobile d'un composé non retenu par la phase stationnaire pour parcourir le trajet entre l'entrée et la sortie de la colonne.

Temps de séjour sans retenu dans la colonne.

- **Temps de rétention  $T_r$  [21]:**

Temps total passé dans la colonne mesuré entre l'entrée et la sortie du système chromatographique, caractéristique du constituant.

- **Temps de rétention corrigé  $T_r'$  [21] :**

$$T_r' = T_r - T_m$$

- **Largeur de pic  $\omega$ , et largeur à mi-hauteur  $\omega_{1/2}$  [21] :**

Temps que met le produit pour sortir de la colonne définit par la largeur du pic à mi-hauteur  $\omega_{1/2}$  exprimée en secondes ; la mesure de cette dernière étant plus facile et plus précise que celle de la largeur du pic à la base  $\omega$ .

**b- Notion de concentration :**

- **Le facteur de partage :**

Elle traduit l'affinité d'un composé pour la phase stationnaire représentant le passage de la phase mobile à la phase stationnaire et inversement [22].

$$K = [C_{\text{stat}}] / [C_{\text{mob}}]$$

- **Le facteur de capacité K' :**

C'est le rapport de la quantité d'un même soluté, dans la phase stationnaire et dans la phase mobile [22].

$$K' = C_s V_s / C_m V_m = K V_s / V_m$$

$C_s$  : concentration dans la phase stationnaire ;

$V_s$  : volume de la phase stationnaire ;

$C_m$  : concentration dans la phase mobile ;

$V_m$  : volume de la phase mobile.

C'est aussi le rapport du temps passé par une espèce dans la phase stationnaire par rapport au temps passé par cette même espèce dans la phase mobile. Il peut être déterminé expérimentalement par :

$$K' = (T_r - T_m) / T_m$$

**C- Notions de qualité de séparation:**

- **La sélectivité  $\alpha$  [22]:**

$\alpha$  est le rapport des temps de rétention réduits

$$\alpha = T_{rB}' / T_{rA}' = K'_B / K'_A$$

$\alpha$  est toujours  $\geq 1$  car  $T_{rB}'$  est  $>$  à  $T_{rA}'$ .

- **L'efficacité [22]:**

Elle est caractérisée par la largeur d'un pic et elle est exprimée par le nombre de plateaux

$$N_{\text{th}} = 5,54 (T_r / \omega_{1/2})^2$$

On peut aussi utiliser le nombre de plateaux effectifs  $N_{\text{eff}}$

$$N_{\text{eff}} = 5,54 (T_r - T_m / \omega_{1/2})^2$$

la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT) est définie à partir de la longueur L de la colonne :

$$\text{HEPT} = L / N_{\text{th}}$$

- **La résolution [22]:**

La résolution entre deux pics est définie par la relation suivante :

$$R = 2 (T_{rB} - T_{rA}) / (\omega_B + \omega_A)$$

$$= 1,18 (T_{rB} - T_{rA}) / (\omega_{1/2B} + \omega_{1/2A}).$$

- Si  $R < 1$  : mauvaise résolution
- Si  $1 < R < 1,4$  : résolution faible.
- Si  $R > 1,6$ : très bonne résolution (car le temps d'analyse est rallongé)

la résolution peut aussi s'exprimer par la sélectivité et par l'efficacité

$$R = \frac{1}{4} (\alpha - 1 / \alpha) (k' / 1 + k') \sqrt{N_{th}}$$

$$R = \frac{1}{4} (\alpha - 1 / \alpha) \sqrt{N_{eff}}$$

# Chapitre III:

## Généralités sur les méthodes de validation



Il existe plusieurs définitions et façons de calculer les différents paramètres liées à la validation d'une méthode. A l'intérieur du suivi de la qualité des activités d'un laboratoire, il devient essentiel d'uniformiser ces définitions ainsi que les méthodes de calculs utilisées.

### III- 1- Définition de la validation :

Dans l'industrie pharmaceutique, la validation est une opération destinée à démontrer que tout procédé utilisé pour l'analyse d'un produit conduit effectivement au bon résultat.

Quatre types de méthodes d'analyses font l'objet d'une validation périodique :

- test d'identification ;
- Dosage quantitatif des impuretés ;
- Vérification des teneurs limités ;
- Dosage de la partie active (principe actif) ou de plusieurs autres composantes de la substance médicamenteuse ou du produit fini. [23]

Selon les B.P.F (bonne pratique de fabrication européenne, 2004), la validation est l'établissement de toute preuve en conformité avec la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, matériel, produit ou activité permettant d'atteindre réellement les résultats escomptés. [24]

### III-2- Critères de la validation :

Les performances d'une méthode analytique s'expriment à l'aide de différents critères (tableau 1), les critères à valider dans une méthode de dosage sont : [23]

- Spécificité ;
- Linéarité ;
- L'exactitude ;
- Fidélité ;
- La limite de détection.

Tableau.3. Critères de la validation selon le type d'analyse [25]

Critères	Types d'analyse		
	identification	Essai limite	quantification
Spécificité	+	+	+
linéarité	-	-	+
Répétabilité	-	-	+

<b>Fidélité intermédiaire</b>	-	-	+
<b>Exactitude</b>	-	+	+
<b>Limite de quantification</b>	-	+	+

Tel que : + : appliqué ;

- : non appliqué.

### III.2.1- Spécificité :

La spécificité est la capacité d'une méthode analytique à mesurer un analyte particulier, sans que cette mesure ne soit faussée par d'autres composants de l'échantillon. [26]

### III.2.2- Linéarité :

La linéarité est la propriété que possède un phénomène physique de répondre selon une relation du premier degré, exprimé par le fait que les points expérimentaux se répartissent au voisinage d'une droite. Dans ce cas, le signal mesuré (y) s'exprime en fonction de la grandeur à mesurer (x) par la relation : [23]

$$Y = a X + b$$

Les paramètres suivants sont définis : l'ordonnée à l'origine et la pente, le coefficient de régression ( $R^2$ ), l'existence d'une pente significative avec la comparaison de l'ordonnée à l'origine avec la valeur zéro.

### III.2.3- Exactitude :

Le terme exactitude comprend le déplacement total d'un résultat par rapport à la référence, due aussi bien au hasard, qu'aux effets systématiques. L'exactitude exprime donc l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence. [26]

### III.2.4- Fidélité :

L'ICH définit trois niveaux de fidélité d'une méthode, la répétabilité, la fidélité intermédiaire, et la reproductibilité. [25]

Tableau.3. niveaux de fidélité par l'ICH. [26]

Répétabilité	Fidélité intermédiaire	reproductibilité
Statique sur des résultats obtenus dans un intervalle de temps court dans les mêmes conditions.	Statique sur des résultats de laboratoire en fonction des jours, de l'équipement et du manipulateur.	Statique sur des résultats se référant des études de différents laboratoires.

➤ **La répétabilité :**

La répétabilité présente la qualité de l'accord des mesures répétées. Elle s'exprime par l'écart-type calculé d'une série de N mesures indépendantes obtenues par un seul opérateur dans un court intervalle du temps et sur le même échantillon.

➤ **La fidélité intermédiaire :**

La fidélité intermédiaire représente la qualité de l'accord entre des mesures obtenues dans des conditions différentes (deux opérateurs sur trois jours).

➤ **La reproductibilité :**

Le test de reproductibilité consiste à produire la même expérimentation dans des laboratoires différents.

✓ **La limite de détection (LDM):**

La limite de détection est la plus petite quantité ou concentration de l'analyse dans l'échantillon d'essai que l'on peut distinguer de zéro de façon fiable.

✓ **La limite de quantification (LQM):**

La limite de quantification d'une méthode est la concentration minimale qui peut être quantifiée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie.

✓ **L'intervalle de validité:**

L'intervalle de validité est l'intervalle qui est compris entre la concentration (quantité) la plus élevée et la plus faible de l'échantillon dans lequel il a été démontré que la méthode d'analyse présente une fidélité, une exactitude et une linéarité satisfaisante. [23]

# Chapitre IV: Formules de calcul

**V-1- Formules de calcul :**

Pour l'étude statistique nous avons introduit nos valeurs expérimentales dans un logiciel programmé par SAIDAL, appelé feuille de calcul moyennant les formules de calcul suivantes :

**Estimation des droites de régression linéaire :**

- **Calcul de la moyenne empirique de (X) :**

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum X$$

- **Calcul de la moyenne empirique de (Y) :**

$$\bar{Y} = \frac{1}{n} \sum Y$$

**Calcul de la pente (b) :**

$$b = \frac{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x})(y_{ij} - \bar{y})}{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x})^2}$$

**Calcul de l'ordonnée a l'origine (a) :**

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

**Calcul du coefficient de corrélation (r) :**

- **Calcul de la covariance :**

$$S_{x_{ij} y_{ij}} = \frac{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x})(y_{ij} - \bar{y})}{(N - 1)}$$

i :

j :

- **Calcul du coefficient de corrélation :**

$$r = S_{x_{ij} y_{ij}} / S_{x_{ij}} \cdot S_{y_{ij}}$$

**Teste de comparaison de l'ordonnée à l'origine avec 0 (test de student):**

$$t_0 = \frac{|a|}{S_a} < t_{(n_i x - 2)}$$

**Comparaison des pentes des droites :**

$$t = |b_1 - b_2| / \sqrt{S^2 b_1 + S^2 b_2}$$

**Comparaison des ordonné à l' origine des droites :**

$$t = |a_1 - a_2| / \sqrt{S^2 a_1 + S^2 a_2}$$

**Test d'homogénéité des variances :**

$$C = S_{max}^2 / \sum_{i=1}^j S_j^2$$

**Comparaison de variances :**

$$F_{calculé} = \frac{S_R^2}{S_E^2}$$

**Test d'existence d'une pente significative (Fisher 1) :**

$$F_1 = \frac{S_L^2}{S_R^2} > F_{(\alpha, 1, x-2)}$$

**Test de validité de la droite de régression (Fisher 2):**

$$F_2 = \frac{S_L^2}{S_E^2} > F_{(a, k-2, N-k)}$$

**Système de référence considérée : droite D<sub>1</sub>**

- Transformation des données brutes en quantités retrouvées :

$$X_{ij} = \frac{y_{ij} - a_1}{b_1}$$

- Système de référence considéré étalon 100% :

$$y_{ij} = \frac{y_{ij}}{b_2}$$

**Moyenne des groupes :**

$$m_j = \frac{\sum_{j=1}^{n_j} y_j}{n_j}$$

**Variance de répétition :**

$$S_j^2 = \frac{\sum_{j=1}^{n_j} (y_{ij} - m_j)^2}{n_j - 1}$$

Tel que :  $NDL_j = n_j - 1$

**Variation de répétabilité :**

$$Sr^2 = \frac{\sum_{j=1}^k |(n_j - 1) \cdot S_j^2|}{(\sum_{j=1}^k n_j) \cdot k}$$

**Variance inter-groupe :**

$$Sg^2 = \frac{\frac{\sum_{j=1}^k [n_j (m_j - \bar{m})^2]}{k - 1}}{\bar{n}} - Sr^2$$

**Variance de reproductibilité :**

$$SR^2 = Sr^2 + Sg^2$$

**Coefficient de variation :**

$$CV (\%) = \frac{S \cdot 100}{m}$$

S : la variance ;

m : moyenne des groupes.

# Partie Expérimentale



# Chapitre V: Matériels et méthodes

**Le dosage du principe actif par HPLC est réalisé par les étapes suivantes:**

#### **IV-1- Appareillage :**

- Chromatographie en phase Liquide équipée d'un détecteur UV de marque Waters.
- Balance analytique de précision
- pH mètre
- Dispositif de filtration
- Agitateur magnétique

#### **IV-2- Réactifs utilisés :**

- Acétonitrile grade HPLC
- Dihydrogénophosphate d'ammonium monobasique
- Triéthylamine
- Acide orthophosphorique à 85%
- Eau distillée

#### **IV-3- Mode opératoire :**

##### **➤ Préparation des solutions**

- **Solution de di-hydrogéo-phosphate d'ammonium monobasique**

Dans une fiole de 1000ml,

- dissoudre 1,32g de dihydrogénophosphate d'ammonium monobasique dans de l'eau distillée ;
- compléter au volume avec le même solvant ;
- Ajouter 10ml de triéthylamine et ajuster le pH à 3,0 avec de l'acide orthophosphorique à 85%.

- **Phase mobile**

[Solution de dihydrogénophosphate d'ammonium monobasique /Acétonitrile], [80/20], filtrer et dégazer.

**▪ Solution standard**

- Dissoudre 325mg de Paracétamol matière première titrée dans une fiole de 100ml, compléter au volume avec la phase mobile. Bien agiter.
- Prélever 2,5ml de la solution et la diluer à 25ml avec la phase mobile.

**▪ Solution à examiner**

- Peser 20 comprimés du produit fini IXPRIM<sup>®</sup> comprimé pelliculé à 325mg/37,5mg et noter le poids moyen.
- Les broyer en poudre fine.
- Dans une fiole de 100ml, dissoudre l'équivalent du poids moyen dans 50ml de phase mobile, agiter pendant 10min et compléter au volume avec la phase mobile.
- Filtrer la solution avec un filtre de 0,45µm.
- Prélever 2,5ml de cette solution et la diluer à 25ml avec la phase mobile.

**➤ Conditions opératoires**

- Régime isocratique ;
- Colonne : C18 (15cm × 4,6 mm) ;
- Longueur d'onde : 217nm ;
- Débit : 1,0ml/min ;
- Volume d'injection : 20 µl ;
- Température de la colonne : Ambiante.

**IV-4- Formule de calcul :**

$$\text{Teneur du principe actif en mg/ml} = \frac{S_{ex}}{S_{st}} \times \frac{P_{st}}{D_{st}} \times \frac{D_{ex}}{P_{ex}} \times P \times PM$$

Avec :

$S_{ex}$  : Surface du paracétamol dans la solution à examiner.

$S_{st}$  : Surface du paracétamol dans la solution standard.

$P_{st}$  : Prise d'essai du paracétamol dans la solution standard, en mg.

$D_{st}$  : Dilution de la solution standard, en ml.

$D_{ex}$  : Dilution de la solution à examiner, en ml.

$P_{ex}$  : Prise d'essai du produit fini IXPRI<sup>®</sup>, en mg.

P : Pureté du paracétamol matière première titrée = 99,8%

PM : Poids moyen des comprimés, en mg.

### ❖ IXPRI (Paracétamol / Tramadol) comprimé pelliculé à 325mg/37,5mg

#### ➤ Méthode de contrôle

- Dosage du principe actif

Le dosage du principe actif se fait par Chromatographie Liquide à Haute Performance équipée d'un détecteur UV.

## IV-4- Validation de la méthode

### ➤ Paracétamol

#### 1- Spécificité :

Une solution placebo (excipients déjà citées + chlorhydrate de tramadol) est préparée dans les mêmes conditions que celles décrites pour la solution à examiner, puis injecter et analysée par chromatographie liquide à haute performance.

Le chromatogramme obtenu ne doit présenter aucun pic au temps de rétention correspondant à celui du Paracétamol.

#### 2- Linéarité :

Afin de vérifier la linéarité de la méthode de dosage, une gamme d'étalonnage a été préparée à différentes concentrations allant de 0,26mg/ml à 0,39mg/ml en Paracétamol, soit de 80% à 120% de l'intervalle de mesure, chaque solution est injectée sur trois jours successifs.

La droite de régression linéaire est déterminée par la méthode des moindres carrés, avec :

X = concentration, Y = surface de pic.

Le coefficient de corrélation (r) est calculé afin de définir si r est voisin de 1, ce qui caractérise une bonne corrélation entre la concentration et la surface de pic.

### **3- Exactitude**

Elle est évaluée à l'aide des tests statistiques suivants :

- Homogénéité des variances
- Test de validité des moyennes
- Estimation du recouvrement moyen

### **4- Fidélité**

Elle est évaluée à deux niveaux :

#### **a) La répétabilité**

Elle permet de caractériser la variabilité de la méthode dans la même journée, pour la vérifier; une solution standard du Paracétamol d'une concentration de 0,325 mg/ml est injectée 07 fois durant la même journée et dans les mêmes conditions opératoires.

#### **b) La reproductibilité**

Elle permet de caractériser la variabilité de la méthode sur plusieurs jours, pour l'évaluer; une solution standard du Paracétamol d'une concentration de 0,325 mg/ml est injectée 07 fois sur trois jours.

# Chapitre VI: Résultats et discussion

Les résultats qui suivent représentent les différentes études statistiques sur les paramètres de validation de la méthode de dosage pour le principe actif.

### V-1- Spécificité :

Le chromatogramme obtenu ne présente aucun pic au temps de rétention correspondant à celui du Paracétamol.

### V-2- Linéarité : Détermination de la droite de régression linéaire :

Tableau.5. Les surfaces des pics à différentes concentration.

Essai	Gamme (%)	Concentration (mg/ml)	Surfaces (UA)
1	80	0,2600	10405989
2		0,2600	10086163
3		0,2600	10086807
1	90	0,2925	11309592
2		0,2925	11244725
3		0,2925	11348911
1	100	0,3250	12858966
2		0,3250	12874763
3		0,3250	12774362
1	110	0,3575	13700270
2		0,3575	13751218
3		0,3575	13684125
1	120	0,3900	15651753
2		0,3900	15707539
3		0,3900	15035966

Le tableau montre l'ensemble des données brutes obtenues par 03 séries de dosage.

La linéarité de la méthode de dosage est étudiée par une régression linéaire et est obtenue par la méthode des moindres carrés.

Les réponses obtenues aux différentes concentrations sont déterminées en surfaces de pics.

➤ **Droite de régression linéaire :**

**Tableau.6.** Paramètres de la droite de régression.

$y = b * x + a$	
<b>Pente (b) =</b>	39861521,0256
<b>Ordonnée à l'origine (a) =</b>	-253584,4000
<b>Coefficient de corrélation (r) =</b>	0,9921
<b>Coefficient de régression (<math>r^2</math>)=</b>	0,9843

L'équation de la droite de régression :  $Y = 39861521,0256X - 253584,4000$

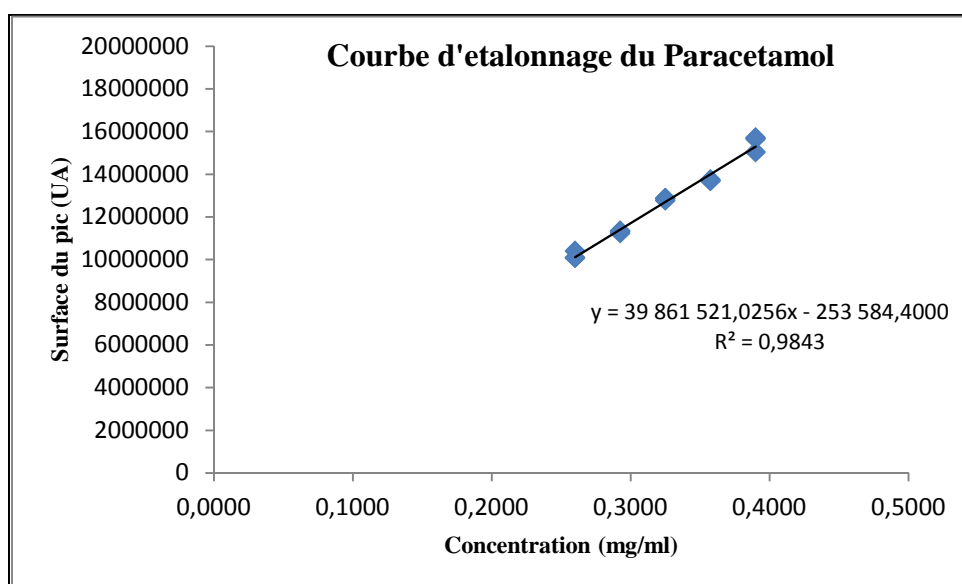


Figure.7. Courbe d'étalonnage.

➤ **Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec 0 :**

**Tableau.7.** Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec l'ordre de zéro.

<b>Ordonnée à l'origine (a)</b>	-253584,40
<b>Ecart type de l'ordonnée à l'origine</b>	457598,45
<b>N</b>	15
<b><math>t_{calculé}</math></b>	0,55

L'ordonnée à l'origine de la droite de régression n'est pas significativement différente de zéro au seuil de probabilité  $p=95\%$  **théorique**.



➤ **Test d'homogénéité des variances :**

**Tableau.8.** Résultats de test d'homogénéité des variances.

<b>S<sub>2</sub>max</b>	138886000249,00
<b>Somme des variances</b>	179822707146,69
<b>C calculé</b>	0,77
<b>K (nb essais)</b>	5
<b>n (nb répétition par essai)</b>	3

L'analyse de l'homogénéité des variances à chaque concentration démontre que l'ensemble des variances des différents groupes peut être considéré comme homogène au risque 1%.

$C_{\text{calculé}} = 0,77 < C_{\text{théorique1\%}} = 0,79$  (test de Cochran).

➤ **Test d'existence d'une pente significative :**

**Tableau.9.** Résultats d'existence d'une pente significative.

	<b>DDL</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Variance</b>	<b>F<sub>1</sub>calculé</b>
<b>Variation totale</b>	15	51150196522372,90		817,53
<b>Variation due à la régression</b>	2	50349563453009,60	50349563453009,60	
<b>Variation résiduelle</b>	13	800633069363,34	61587159181,80	

$F_{1\text{calculé}} = 817,53 > F_{\text{théorique1\%}} = 9,07$

$F_{1\text{calculé}}$  étant significatif, on conclut à l'existence d'une pente significative, donc à une dépendance linéaire au seuil de probabilité  $p=99\%$ .

➤ **Test de validité de la droite de régression :**

**Tableau.10.** Résultats de test de validité de la droite de régression.

<b>Source de variation</b>	<b>DDL</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Variance</b>	<b>F<sub>2</sub>calculé</b>
<b>Erreur expérimentale</b>	10	359645414293,33	35964541429,33	4,09
<b>Erreur de la régression</b>	3	440987655070,01	146995885023,34	

$$F_{2\text{calculé}} = 4,09 < F_{\text{théorique}1\%} = 6,55$$

L'ajustement est considéré comme valide au seuil de probabilité  $p=99\%$

### V-3-Exactitude :

- **Homogénéité des variances :**

**Tableau.11.** Résultats de test d'homogénéité des variances.

<b>S<sub>2</sub>max</b>	4,0129
<b>Somme des variances</b>	7,6282
<b>C<sub>calculé</sub></b>	0,5261
<b>C<sub>théorique 5%</sub></b>	0,68
<b>C<sub>théorique 1%</sub></b>	0,79
<b>Conclusion</b>	Valide au risque 5%

L'analyse de l'homogénéité des variances à chaque concentration démontre que l'ensemble des variances des différents groupes peut être considéré comme homogène au risque 5%.

- **Test de validité des moyennes :**

**Tableau.12.** Résultats de test de validité des moyennes

	<b>DDL</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Variance</b>	<b>F<sub>1calculé</sub></b>	<b>F<sub>1théo5%</sub></b>	<b>F<sub>1théo1%</sub></b>	<b>Conclusion</b>
<b>Variation</b>	14	39,02536	2,78753	3,89	3,48	5,99	Valide au risque 1%
<b>Variation intra-</b>	10	15,25637	1,52564				
<b>Variation intergroupe</b>	4	23,76899	5,94225				

$F_{1\text{calculé}}$  n'étant pas significatif, on conclut donc qu'au risque 1%, les variations des observations entre les différents groupes sont dues aux erreurs expérimentales.

- **Estimation du recouvrement moyen :**

**Tableau.13.** Estimation du recouvrement moyen.

<b>Recouvrement moyen (%)</b>	98,92
<b>Intervalle de confiance (%)</b>	95 à 100.5

Les limites de confiance sont comprises entre 80% et 120% pour l'ensemble des niveaux de concentration.

Compte tenu des résultats obtenus, la procédure peut être considérée comme exacte sur tout l'intervalle de dosage prédéterminé.

#### **V-4- Fidélité :**

##### **❖ Répétabilité :**

**Tableau.14.** Les surfaces des pics à la concentration de 0.325mg/ml.

<b>Essai</b>	1	2	3	4	5	6	7
<b>Concentration (mg/ml)</b>	0,325	0,325	0,325	0,325	0,325	0,325	0,325
<b>Surface du pic (UA)</b>	12858966	12750683	12860111	12900259	12892623	12998543	12904571

Ce tableau montre l'ensemble des données brutes obtenues par le dosage de 07 solutions de Paracétamol d'une concentration de 0,325mg/ml.

##### **❖ Reproductibilité :**

**Tableau.15.** Les surfaces des pics à la concentration de 0.325mg/ml des trois jours.

<b>Essais</b>	<b>Surfaces</b>		
	<b>J</b>	<b>J+1</b>	<b>J+2</b>
<b>1</b>	12858966	12874763	12774362
<b>2</b>	12750683	13063345	13139992
<b>3</b>	12860111	13129517	12845570
<b>4</b>	12900259	13202901	13046245
<b>5</b>	12892623	13068442	13293026
<b>6</b>	12998543	13178228	13099653
<b>7</b>	12904571	13034907	12822004

Le tableau montre l'ensemble des données brutes obtenues du dosage des 03 séries de 07 solutions de Paracétamol d'une concentration de 0,325mg/ml.

❖ **Homogénéité des variances :**

**Tableau.16.** Résultats de test d'homogénéité des variances.

<b>S<sub>2</sub>max</b>	2,2869
<b>Somme des variances</b>	3,3389
<b>C<sub>calculé</sub></b>	0,6849
<b>k (nb essais)</b>	3
<b>n (nb répétitions par essai)</b>	7
<b>C<sub>théorique 5%</sub></b>	0,68
<b>C<sub>théorique 1%</sub></b>	0,76
<b>Conclusion</b>	Valide au risque 1%

C<sub>calculé</sub> est inférieur à la valeur critique de la table au seuil 1% ; le test de COCHRAN n'est pas significatif ; l'ensemble des variances peut être considéré comme homogène.

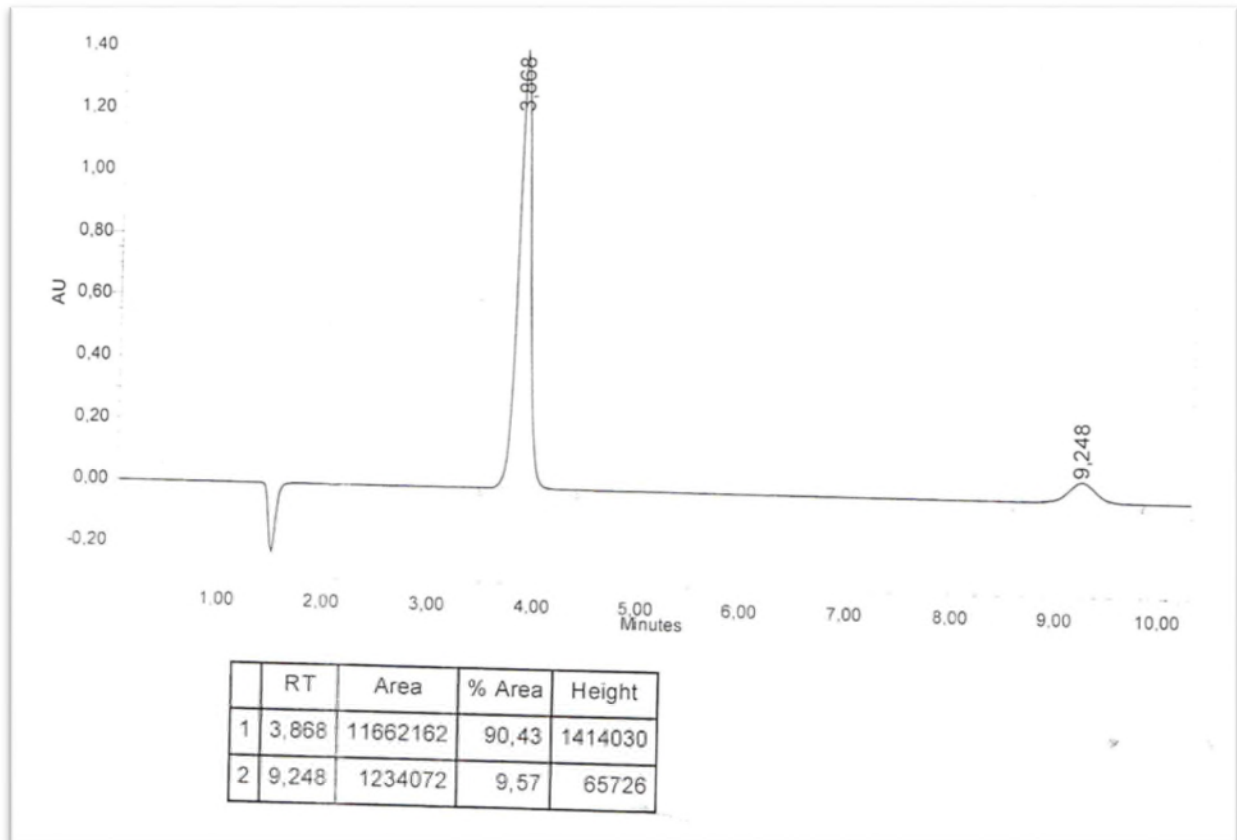
❖ **Variances de répétabilité, intergroupes et de reproductibilité :**

**Tableau.17.** Variances des critères de la fidélité.

<b>Variance de répétabilité</b>	1,1130
<b>Variance intergroupes</b>	0,6191
<b>Variance de reproductibilité</b>	1,7320
<b>Moyenne générale</b>	101,1817
<b>CV répétabilité</b>	1,04%
<b>CV reproductibilité</b>	1,3%

**V-5- Conclusion :**

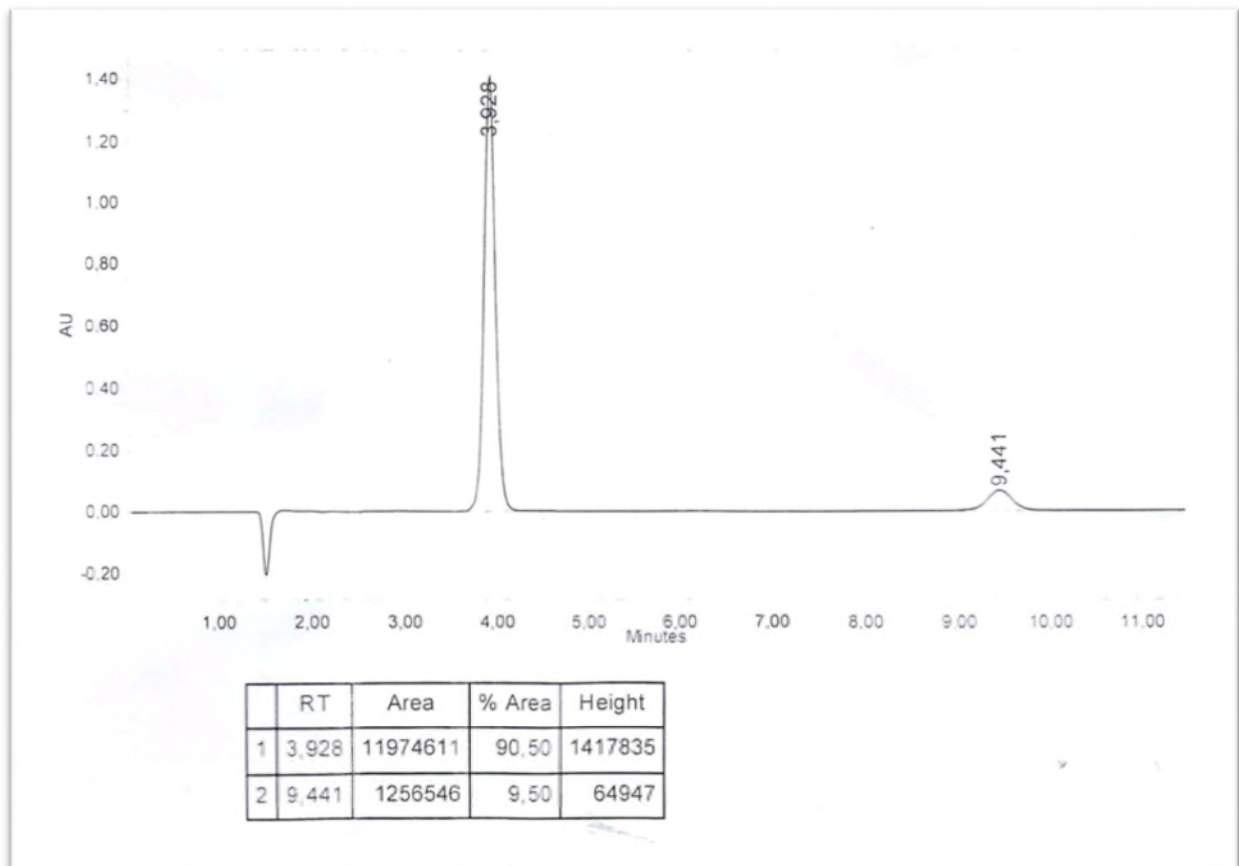
Vu les résultats obtenus au cours des tests de validation, on peut conclure que la méthode est valide pour le dosage du Paracétamol dans le produit fini IXPRIM<sup>®</sup> (Paracétamol/Tramadol), comprimé pelliculé à 325mg/37,5mg, dans l'intervalle de mesure définie.

**V-6- Application au produit fini :****Surface de la solution témoin :****Figure. 7.** Chromatogramme d'essai d'injection d'étalon paracétamol/tramadol.

St= 1234072 unités de surface.

La norme : 95% à 100.5%

Surface de la solution examine :



**Figure. 8.** Chromatogramme d'essai d'injection de produit fini paracétamol/tramadol.

Se= 1256546 unités de surface.

# Conclusion générale

## **Conclusion :**

D'après les résultats obtenus au cours des tests de la validation, on peut conclure que la méthode est validée pour le dosage du paracétamol dans le produit fini IXPRI<sup>®</sup> ; et la teneur de paracétamol est de 318.18mg/Cp.

L'application au produit fini a donné un résultat 98.211% ce qui est conforme vu que l'intervalle de confiance est de 95% à 100.5%.

Dans l'étude statistique pour la validation de nos résultats d'analyse des paramètres tels que la linéarité, l'exactitude et la fidélité nous avons utilisé un logiciel (Excel) programmé et utilisé à SAIDAL qui nous a permis de confirmer la validation des résultats obtenus.

La chromatographie est une technique instrumentale utilisée pour l'analyse chimique, nous avons pu conclure que son utilisation fait gagner du temps à l'analyste et de l'argent à l'industrie par rapport aux techniques classiques telles que la gravimétrie et la spectroscopie.

Nous recommandons une validation de la méthode de dosage du tramadol dans l'ixprim<sup>®</sup>.



---

## Bibliographie

- [1]. H. Lévesque et O. Lafont, « L'aspirine à travers les siècles : Rappel historique », Rev. Med. Interne, vol. 21, mars 2000, p. S8-S17
- [2]. Aronoff DM, Oates JA, Boutaud O. New insights into the mechanism of action of acetaminophen: Its clinical pharmacologic characteristics reflect its inhibition of the two prostaglandin H<sub>2</sub> synthases. Clin. Pharmacol. Ther. 2006.
- [3]. N. Bradley, « BMJ should use "paracetamol" instead of "acetaminophen" in its index », BMJ, vol. 313, 1996, p. 689.
- [4]. J.M.Besson. Rapport d'expert toxico-pharmacologique. Dossier d'AAM IXPRIM<sup>®</sup> 2000.
- [5].Raffa, RB. Pharmacology of oral combination analgesics: rational therapy for pain. J Clin Pharm Ther 2001; 26(4): 257-64.
- [6]. Paracétamol. Pharm. Eur. 5<sup>ème</sup> éd.2004.
- [7]. Prescott L.F., « Paracetamol: past, present, and future », Am J Ther, vol. 7, n° 2, mars 2000, p. 143-7
- [8]. J. Bonnefont, J. P. Courade, A. Alloui et A. Eschalier, « Mechanism of the Antinociceptive Effect of Paracetamol », Drugs, vol. 63, n° 2 (Spec), 2003, p. 1-4
- [9]. Remy, E. Marret, F. Bonnet, « Actualité du paracétamol », Évaluation et traitement de la douleur, 2006, p. 639-648.
- [10]. Bonnefont J, Alloui A, Chapuy E, et al. Orally administered paracetamol does not act locally in the rat formalin test: evidence for a supraspinal, serotonin-dependent antinociceptive mechanism. Anesthesiology, 2003, p. 99.
- [11]. John McMurry and Tadhg Begley, The Organic Chemistry of Biological Pathways, édition française, A, 2005, p. 366.

- [12]. Csaba Szabó, Harry Ischiropoulos and Rafael Radi; Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics *Nat. Rev. Drug Discov.*; 6, 662-680 (August 2007)
- [13]. S. Schück, H Allain, Les médicaments de la douleur, La douleur : moyens et stratégies thérapeutiques, *La Revue du Praticien*, 1997, p. 47 : 555-69.
- [14]. David Møbjerg Kristensen, Ulla Hass et al. "Intrauterine exposure to mild analgesics is a risk factor for development of male reproductive disorders in human and rat." (*Human Reproduction*, 8 novembre 2010)
- [15]. Tolerability of paracetamol Graham et al, *Drugs*, 2003 ; 63 Spec No 2:43-6.
- [16]. Katrin Faber, « Intoxication aiguë au paracétamol », *Forum Médical Suisse*, n° 38, 2010, p. 647-651 [texte intégral].
- [17]. Danel V. « Intoxication aiguë par le paracétamol ». In : Carli P. *Protocoles 2004 - Urgences, plans et schémas thérapeutiques*. Éditions Scientifiques L, 2004, 193-195.
- [18]. *Revue Médicale Suisse* N° 129.17/10/2007. Paracétamol : toxicité hépatique aux doses thérapeutiques et populations à risque. M. Seirafi A. Iten A. Hadengue[1]
- [19]. Bernard calvino, ESPCI-CNRS, paracétamol : ne pas dépasser la dose prescrite, *science* n 385, novembre 2009.
- [20]. MO Rojas-Corrales, J Gibert-Rahola et JA Micó, « Tramadol induces antidepressant-type effects in mice », *Life Sciences*, vol. 63, n° 12, 1998, p. PL175–80.
- [21]. F. Rouessac et A. Rouessac, « Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes », 6<sup>ème</sup> édition. Juillet 2007.
- [22]. Yoshi TSULTI et Wolter MOROZOWICHE, chromatographie sciences GCL and HPLC determination of agents, volume 9 part 1, 2003.
- [23]. H. BOUDIS. Validation analytique. Publication. Mai 2011.
- [24]. Les bonnes pratiques de fabrication, 2004.

[25]. M.Thompson & W.Roger, Harmonised Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories. Pure and applied chemistry, 1995.

[26].Wold and Cool, The international Harmonised for the proficiency testing of chemical laboratory, AOACJ, 1993.





1	0	7	87	.	0	8	6	5	4	3	2	1	1	0	0	9	9	9	9	8	8	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	3	.	
	2	8		3	4	1	4	1	0	1	4	7	2	7	3	9	6	3	0	8	4	0	7	4	2	7	4	1	8	5	0	8	2	8	3	
				7	3	9	9	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	9	7	82	.	9	7	5	4	3	2	1	1	0	0	9	9	9	8	8	7	7	7	6	6	6	6	5	5	5	5	5	4	4	3	.	
	5	2		3	9	6	9	5	5	6	8	2	7	2	8	4	1	8	5	3	8	5	2	9	7	2	8	5	3	0	5	2	6	3	2	
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	8	6	76	.	9	7	5	4	3	2	1	0	0	9	9	8	8	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	5	4	4	4	3	3	2	2	
	8	6		2	4	1	4	1	0	1	4	7	2	7	3	9	6	3	0	8	4	0	7	4	2	7	4	1	8	5	0	7	2	8	2	
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	8	6	72	.	9	6	5	3	2	1	0	0	9	9	8	8	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	4	3	3	2	2	
	2	1		2	0	7	0	6	6	7	9	3	8	3	9	5	2	9	6	4	0	6	3	0	8	3	9	6	4	0	6	3	7	4	2	
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	7	5	68	.	8	6	4	3	2	1	0	9	9	8	8	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	
	7	7		1	5	3	6	2	2	3	6	9	4	9	5	1	8	5	2	0	6	2	9	6	4	9	5	2	0	6	2	9	3	9	1	
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	7	5	64	.	8	5	4	2	1	0	0	9	9	8	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	
	7	5		1	2	9	2	9	8	9	2	6	0	6	1	8	5	2	9	6	2	8	5	3	0	5	2	9	6	3	8	5	9	6	4	
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	6	4	60	.	7	5	3	2	1	0	9	9	8	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	
	7	5		1	8	6	9	6	5	6	9	3	7	2	8	5	1	8	6	3	9	5	2	9	7	2	8	5	3	9	5	2	6	2	1	
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	6	4	57	.	7	5	3	2	1	0	9	9	8	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	
	4	5		0	5	3	6	3	2	3	6	0	4	9	5	2	8	5	3	0	6	2	9	6	4	9	5	2	0	6	2	9	3	9	0	
2	7	5	4	4	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	6	4	54	.	7	5	3	2	0	0	9	8	8	7	7	6	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2	
	0	2		0	3	0	3	0	9	0	3	7	1	7	3	9	6	3	0	7	3	9	6	4	1	6	3	0	7	3	9	6	0	6	5	
3	7	5	4	4	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	5	3	51	.	7	4	3	1	0	9	9	8	7	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	
	6	9		0	7	0	7	7	8	1	4	9	4	0	0	6	3	0	7	5	1	7	4	1	9	4	0	7	5	1	6	3	7	3	2	
3	7	5	4	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	3	0	46	.	6	4	2	1	0	9	8	8	7	7	6	6	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	
	0	4		9	5	3	6	3	2	3	6	0	4	0	5	2	8	5	3	0	6	2	9	6	4	9	5	2	0	6	1	8	2	8	7	
3	7	5	4	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	4	2	42	.	6	3	2	0	9	8	8	7	7	6	6	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	4	9		9	1	9	2	9	8	9	2	6	0	6	1	8	4	1	9	6	2	8	5	2	0	5	1	8	6	2	7	4	8	4	2	
3	7	5	4	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	4	2	38	.	5	3	1	0	9	8	7	7	6	6	5	5	5	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	0	5		8	7	5	8	5	5	6	9	2	7	2	8	4	1	8	5	3	8	5	2	9	6	1	8	4	2	8	3	0	0	0	9	
3	7	5	4	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	3	2	34	.	5	3	1	0	9	8	7	6	6	5	5	5	4	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	5	1		8	4	2	5	2	2	3	5	9	4	9	5	1	8	5	2	0	5	2	8	6	3	8	4	1	9	5	0	7	0	6	5	

40	7.31	5.18	4.31	3.83	3.51	3.29	3.12	2.99	2.89	2.80	2.73	2.66	2.61	2.56	2.52	2.48	2.44	2.40	2.36	2.32	2.28	2.24	2.20	2.16	2.11	2.07	2.03	1.99	1.94	1.90	1.86	1.82
42	7.28	5.15	4.29	3.80	3.49	3.27	3.10	2.97	2.87	2.78	2.71	2.64	2.59	2.54	2.50	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.26	2.22	2.18	2.14	2.10	2.05	2.01	1.97	1.92	1.88	1.84	1.80
44	7.25	5.12	4.26	3.78	3.47	3.25	3.08	2.95	2.85	2.76	2.69	2.62	2.57	2.52	2.48	2.44	2.40	2.36	2.32	2.28	2.24	2.20	2.16	2.12	2.08	2.03	1.99	1.95	1.90	1.86	1.82	1.78
46	7.22	5.10	4.24	3.76	3.45	3.23	3.06	2.93	2.83	2.74	2.67	2.60	2.55	2.50	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.26	2.22	2.18	2.14	2.10	2.06	2.01	1.97	1.92	1.88	1.84	1.80	1.76
48	7.19	5.08	4.22	3.74	3.43	3.21	3.04	2.91	2.81	2.72	2.65	2.58	2.53	2.48	2.44	2.40	2.36	2.32	2.28	2.24	2.20	2.16	2.12	2.08	2.03	1.99	1.95	1.90	1.86	1.82	1.78	1.74
50	7.17	5.06	4.20	3.72	3.41	3.19	3.02	2.89	2.79	2.70	2.63	2.56	2.51	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.26	2.22	2.18	2.14	2.10	2.06	2.01	1.97	1.92	1.88	1.84	1.80	1.76	1.72
55	7.12	5.01	4.16	3.68	3.37	3.15	2.98	2.85	2.75	2.66	2.59	2.52	2.47	2.42	2.38	2.34	2.30	2.26	2.22	2.18	2.14	2.10	2.06	2.01	1.97	1.92	1.88	1.84	1.80	1.76	1.72	1.68
60	7.08	4.98	4.13	3.65	3.34	3.12	2.95	2.82	2.72	2.63	2.56	2.49	2.44	2.39	2.35	2.31	2.27	2.23	2.19	2.15	2.11	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.85	1.81	1.77	1.73	1.69	1.65
65	7.04	4.95	4.10	3.62	3.31	3.09	2.92	2.79	2.69	2.60	2.53	2.46	2.41	2.36	2.32	2.28	2.24	2.20	2.16	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.86	1.82	1.78	1.74	1.70	1.66	1.62
70	7.01	4.93	4.07	3.60	3.29	3.07	2.90	2.77	2.67	2.58	2.51	2.44	2.39	2.34	2.30	2.26	2.22	2.18	2.14	2.10	2.06	2.02	1.97	1.93	1.88	1.84	1.80	1.76	1.72	1.68	1.64	1.60
75	6.99	4.91	4.05	3.58	3.27	3.05	2.88	2.75	2.65	2.56	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.24	2.20	2.16	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.86	1.81	1.77	1.73	1.69	1.65	1.61	1.57
80	6.97	4.89	4.04	3.56	3.25	3.03	2.86	2.73	2.63	2.54	2.47	2.40	2.35	2.30	2.26	2.22	2.18	2.14	2.10	2.06	2.02	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.75	1.71	1.67	1.63	1.59	1.55
85	6.95	4.87	4.02	3.54	3.23	3.01	2.84	2.71	2.61	2.52	2.45	2.38	2.33	2.28	2.24	2.20	2.16	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.86	1.81	1.77	1.73	1.69	1.65	1.61	1.57	1.53
90	6.93	4.85	4.01	3.53	3.21	2.99	2.82	2.69	2.59	2.50	2.43	2.36	2.31	2.26	2.22	2.18	2.14	2.10	2.06	2.02	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.75	1.71	1.67	1.63	1.59	1.55	1.51





## Table de la Loi de Student

Cette table donne les fractiles de la loi de Student à  $v$  degrés de liberté : valeur  $t$  ayant la probabilité  $\alpha$  d'être dépassée en valeur absolue :  $P(-t < T < t) = 1 - \alpha$ .  
Ou :  $P(T < -t) = \alpha/2 = P(T > t)$

$\alpha$ bilatéral	$1 - \alpha / 2$ (unilatéral)	$v$ (degré de liberté)
--------------------	----------------------------------	------------------------

	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05	0.02	0.01	0.005	0.001
	0.55	0.6	0.65	0.7	0.75	0.8	0.85	0.9	0.95	0.975	0.99	0.995	0.9975	0.9995
1	0.1584	0.3249	0.5095	0.7265	1	1.3764	1.9626	3.0777	6.3137	12.706	31.821	63.656	127.32	636.58
2	0.1421	0.2887	0.4447	0.6172	0.8165	1.0607	1.3862	1.8856	2.92	4.3027	6.9645	9.925	14.089	31.6
3	0.1366	0.2767	0.4242	0.5844	0.7649	0.9785	1.2498	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408	7.4532	12.924
4	0.1338	0.2707	0.4142	0.5686	0.7407	0.941	1.1896	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041	5.5975	8.6101
5	0.1322	0.2672	0.4082	0.5594	0.7267	0.9195	1.1558	1.4759	2.015	2.5706	3.3649	4.0321	4.7733	6.8685
6	0.1311	0.2648	0.4043	0.5534	0.7176	0.9057	1.1342	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074	4.3168	5.9587
7	0.1303	0.2632	0.4015	0.5491	0.7111	0.896	1.1192	1.4149	1.8946	2.3646	2.9979	3.4995	4.0294	5.4081
8	0.1297	0.2619	0.3995	0.5459	0.7064	0.8889	1.1081	1.3968	1.8595	2.306	2.8965	3.3554	3.8325	5.0414
9	0.1293	0.261	0.3979	0.5435	0.7027	0.8834	1.0997	1.383	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498	3.6896	4.7809
10	0.1289	0.2602	0.3966	0.5415	0.6998	0.8791	1.0931	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693	3.5814	4.5868
11	0.1286	0.2596	0.3956	0.5399	0.6974	0.8755	1.0877	1.3634	1.7959	2.201	2.7181	3.1058	3.4966	4.4369
12	0.1283	0.259	0.3947	0.5386	0.6955	0.8726	1.0832	1.3562	1.7823	2.1788	2.681	3.0545	3.4284	4.3178
13	0.1281	0.2586	0.394	0.5375	0.6938	0.8702	1.0795	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123	3.3725	4.2209
14	0.128	0.2582	0.3933	0.5366	0.6924	0.8681	1.0763	1.345	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768	3.3257	4.1403
15	0.1278	0.2579	0.3928	0.5357	0.6912	0.8662	1.0735	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467	3.286	4.0728
16	0.1277	0.2576	0.3923	0.535	0.6901	0.8647	1.0711	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208	3.252	4.0149
17	0.1276	0.2574	0.3919	0.5344	0.689	0.8633	1.069	1.333	1.739	2.109	2.566	2.898	3.222	3.965

	6	3	9	4	2	3		4	6	8	9	2	4	1
18	0.127 4	0.257 1	0.391 5	0.533 8	0.688 4	0.862	1.067 2	1.330 4	1.734 1	2.100 9	2.552 4	2.878 4	3.196 6	3.921 7
19	0.127 4	0.256 9	0.391 2	0.533 3	0.687 6	0.861	1.065 5	1.327 7	1.729 1	2.093	2.539 5	2.860 9	3.173 7	3.883 3
20	0.127 3	0.256 7	0.390 9	0.532 9	0.687	0.86	1.064	1.325 3	1.724 7	2.086	2.528	2.845 3	3.153 4	3.849 6
21	0.127 2	0.256 6	0.390 6	0.532 5	0.686 4	0.859 1	1.062 7	1.323 2	1.720 7	2.079 6	2.517 6	2.831 4	3.135 2	3.819 3
22	0.127 1	0.256 4	0.390 4	0.532 1	0.685 8	0.858 3	1.061 4	1.321 2	1.717 1	2.073 9	2.508 3	2.818 8	3.118 8	3.792 2
23	0.127 1	0.256 3	0.390 2	0.531 7	0.685 3	0.857 5	1.060 3	1.319 5	1.713 9	2.068 7	2.499 9	2.807 3	3.104	3.767 6
24	0.127	0.256 2	0.39	0.531 4	0.684 8	0.856 9	1.059 3	1.317 8	1.710 9	2.063 9	2.492 2	2.797	3.090 5	3.745 4
25	0.126 9	0.256 1	0.389 8	0.531 2	0.684 4	0.856 2	1.058 4	1.316 3	1.708 1	2.059 5	2.485 1	2.787 4	3.078 2	3.725 1
26	0.126 9	0.256	0.389 6	0.530 9	0.684	0.855 7	1.057 5	1.315	1.705 6	2.055 5	2.478 6	2.778 7	3.066 9	3.706 7
27	0.126 8	0.255 9	0.389 4	0.530 6	0.683 7	0.855 1	1.056 7	1.313 7	1.703 3	2.051 8	2.472 7	2.770 7	3.056 5	3.689 5
28	0.126 8	0.255 8	0.389 3	0.530 4	0.683 4	0.854 6	1.056	1.312 5	1.701 1	2.048 4	2.467 1	2.763 3	3.047	3.673 9
29	0.126 8	0.255 7	0.389 2	0.530 2	0.683	0.854 2	1.055 3	1.311 4	1.699 1	2.045 2	2.462	2.756 4	3.038	3.659 5
30	0.126 7	0.255 6	0.389	0.53	0.682 8	0.853 8	1.054 7	1.310 4	1.697 3	2.042 3	2.457 3	2.75	3.029 8	3.646
31	0.126 7	0.255 5	0.388 9	0.529 8	0.682 5	0.853 4	1.054 1	1.309 5	1.695 5	2.039 5	2.452 8	2.744	3.022 1	3.633 5
32	0.126 7	0.255 5	0.388 8	0.529 7	0.682 2	0.853	1.053 5	1.308 6	1.693 9	2.036 9	2.448 7	2.738 5	3.014 9	3.621 8
33	0.126 6	0.255 4	0.388 7	0.529 5	0.682	0.852 6	1.053	1.307 7	1.692 4	2.034 5	2.444 8	2.733 3	3.008 2	3.610 9
34	0.126 6	0.255 3	0.388 6	0.529 4	0.681 8	0.852 3	1.052 5	1.307	1.690 9	2.032 2	2.441 1	2.728 4	3.002	3.600 7
35	0.126 6	0.255 3	0.388 5	0.529 2	0.681 6	0.852	1.052	1.306 2	1.689 6	2.030 1	2.437 7	2.723 8	2.996 1	3.591 1
36	0.126 6	0.255 2	0.388 4	0.529 1	0.681 4	0.851 7	1.051 6	1.305 5	1.688 3	2.028 1	2.434 5	2.719 5	2.990 5	3.582 1
37	0.126 5	0.255 2	0.388 3	0.528 9	0.681 2	0.851 4	1.051 2	1.304 9	1.687 1	2.026 2	2.431 4	2.715 4	2.985 3	3.573 7
38	0.126 5	0.255 1	0.388 2	0.528 8	0.681	0.851 2	1.050 8	1.304 2	1.686	2.024 4	2.428 6	2.711 6	2.980 3	3.565 7
39	0.126 5	0.255 1	0.388 2	0.528 7	0.680 8	0.850 9	1.050 4	1.303 6	1.684 9	2.022 7	2.425 8	2.707 9	2.975 6	3.558 1
40	0.126 5	0.255	0.388 1	0.528 6	0.680 7	0.850 7	1.05	1.303 1	1.683 9	2.021 1	2.423 3	2.704 5	2.971 2	3.551
41	0.126 4	0.255	0.388	0.528 5	0.680 5	0.850 5	1.049 7	1.302 5	1.682 9	2.019 5	2.420 8	2.701 2	2.967	3.544 3
42	0.126	0.255	0.388	0.528	0.680	0.850	1.049	1.302	1.682	2.018	2.418	2.698	2.963	3.537

	4			4	4	3	4			1	5	1		7
43	0.126 4	0.254 9	0.387 9	0.528 3	0.680 2	0.850 1	1.049 1	1.301 6	1.681 1	2.016 7	2.416 3	2.695 1	2.959 2	3.531 6
44	0.126 4	0.254 9	0.387 8	0.528 2	0.680 1	0.849 9	1.048 8	1.301 1	1.680 2	2.015 4	2.414 1	2.692 3	2.955 5	3.525 8
45	0.126 4	0.254 9	0.387 8	0.528 1	0.68	0.849 7	1.048 5	1.300 7	1.679 4	2.014 1	2.412 1	2.689 6	2.952 1	3.520 3
46	0.126 4	0.254 8	0.387 7	0.528 1	0.679 9	0.849 5	1.048 2	1.300 2	1.678 7	2.012 9	2.410 2	2.687	2.948 8	3.514 9
47	0.126 3	0.254 8	0.387 7	0.528	0.679 7	0.849 3	1.048	1.299 8	1.677 9	2.011 7	2.408 3	2.684 6	2.945 6	3.509 9
48	0.126 3	0.254 8	0.387 6	0.527 9	0.679 6	0.849 2	1.047 8	1.299 4	1.677 2	2.010 6	2.406 6	2.682 2	2.942 6	3.505
49	0.126 3	0.254 7	0.387 6	0.527 8	0.679 5	0.849	1.047 5	1.299 1	1.676 6	2.009 6	2.404 9	2.68	2.939 7	3.500 5
50	0.126 3	0.254 7	0.387 5	0.527 8	0.679 4	0.848 9	1.047 3	1.298 7	1.675 9	2.008 6	2.403 3	2.677 8	2.937	3.496
60	0.126 2	0.254 5	0.387 2	0.527 2	0.678 6	0.847 7	1.045 5	1.295 8	1.670 6	2.000 3	2.390 1	2.660 3	2.914 6	3.460 2
70	0.126 1	0.254 3	0.386 9	0.526 8	0.678	0.846 8	1.044 2	1.293 8	1.666 9	1.994 4	2.380 8	2.647 9	2.898 7	3.435
80	0.126 1	0.254 2	0.386 7	0.526 5	0.677 6	0.846 1	1.043 2	1.292 2	1.664 1	1.990 1	2.373 9	2.638 7	2.887	3.416 4
90	0.126	0.254 1	0.386 6	0.526 3	0.677 2	0.845 6	1.042 4	1.291	1.662	1.986 7	2.368 5	2.631 6	2.877 9	3.401 9
100	0.126	0.254	0.386 4	0.526 1	0.677	0.845 2	1.041 8	1.290 1	1.660 2	1.984	2.364 2	2.625 9	2.870 7	3.390 5
110	0.126	0.254	0.386 3	0.525 9	0.676 7	0.844 9	1.041 3	1.289 3	1.658 8	1.981 8	2.360 7	2.621 3	2.864 8	3.381 1
120	0.125 9	0.253 9	0.386 2	0.525 8	0.676 5	0.844 6	1.040 9	1.288 6	1.657 6	1.979 9	2.357 8	2.617 4	2.859 9	3.373 4
130	0.125 9	0.253 9	0.386 2	0.525 7	0.676 4	0.844 4	1.040 6	1.288 1	1.656 7	1.978 4	2.355 4	2.614 2	2.855 7	3.367
140	0.125 9	0.253 8	0.386 1	0.525 6	0.676 2	0.844 2	1.040 3	1.287 6	1.655 8	1.977 1	2.353 3	2.611 4	2.852 2	3.361 3

infini (loi normale)	0.125 7	0.253 3	0.385 3	0.524 4	0.674 4	0.841 6	1.036 4	1.281 6	1.644 9	1.96	2.326 4	2.575 9	2.807 2	3.290 8
-------------------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------	------------	------------	------------	------------

## **Résumé :**

L' IXP<sup>®</sup> est un antalgique et antipyrétique présenté sous forme de comprimé pelliculé de couleur jaune pale ; il est composé de deux principes actifs : le paracétamol à 325mg et le chlorhydrate de tramadol à 37.5mg.

Le dosage du paracétamol dans l'IXP<sup>®</sup> est validé par la chromatographie HPLC qui est une méthode d'analyse qualitative et quantitative de la chimie analytique dans laquelle l'échantillon contenant une ou plusieurs espèces est entraîné par un courant de phase mobile le long d'une phase stationnaire.

La validation de cette opération est destinée à démontrer que tout procédé utilisé pour l'analyse d'un produit conduit effectivement au bon résultat.

Mots clé : IXP<sup>®</sup>, paracétamol, chromatographie HPLC, validation...