

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة صالح بونيدر قسنطينة 3  
UNIVERSITE SALAH BOUBNIDER CONSTANTINE



3  
كلية الطب - قسم الصيدلة  
FACULTE DE MEDECINE - DEPARTEMENT DE  
PHARMACIE

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de  
DOCTEUR EN PHARMACIE

**DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION DE MÉTHODES  
CHIMIOMÉTRIQUES POUR LE DOSAGE SIMULTANÉ DE  
L'ACIDE ACÉTYLSALICYLIQUE ET DU PARACÉTAMOL**

Encadré par :

Pr. LALAOUNA Abd El Djalil

Présenté par :

- MEGHRICHE Belkis Nouha
- SADDAR Abir
- TLILANI Roumaissa
- TOURECHE Okba El Arbi

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2021 - 2022

# Table des matières

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	III
Liste des annexes.....	V
Liste des abréviations et des acronymes.....	VI
Liste des définitions.....	VIII

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I. SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION MOLECULAIRE DANS L'UV ET LE VISIBLE

2	Introduction générale.....	1
1.	Introduction .....	2
2.	Phénomène de l'absorption de la lumière .....	2
2.1	L'origine et la position des bandes .....	3
2.1.1	Les électrons $\sigma$ .....	3
2.1.2	Les électrons $\pi$ .....	3
2.1.3	Les électrons n.....	3
2.2	L'intensité des bandes.....	4
2.3	Différents types d'effet sur les bandes d'absorption .....	5
3	Principes de la spectrophotométrie UV-visible.....	5
3.1	Loi de Beer –Lambert.....	6
3.2	Déviations de la loi de Beer-Lambert et les sources d'erreur .....	7
4	Instrumentation dans l'UV-visible .....	8
4.1	Sources de lumière .....	8
4.2	Monochromateurs.....	9
4.2.1	Les filtres.....	9
4.2.2	Les prismes.....	9
4.3	Cellules de mesure.....	10
4.4	Détecteurs.....	11
4.5	Les différentes configurations des spectromètre UV/visible :.....	12
4.5.1	Spectrophotomètres à montage direct .....	12
4.5.2	Spectrophotomètres à montage inverse .....	12
5	Choix de solvant en spectrophotométrie UV/visible.....	14
5.1	Influence du solvant sur les caractéristiques d'absorption .....	14
5.1.1	Absorption propre du solvant.....	14
5.1.2	Polarité.....	15
5.1.3	Influence du pH.....	17

5.1.4	Liaison hydrogène .....	17
5.2	Critère de choix du solvant.....	17
5.2.1	Critères analytiques .....	17
5.2.2	Autres critères.....	17
6	Application de la spectrophotométrie UV-visible.....	18
6.1	Analyse qualitative .....	18
6.2	Analyse quantitative .....	18
6.3	L'analyse de mélanges .....	19
6.3.1	Méthodes directes.....	19
6.3.2	Méthodes indirectes.....	19
7	Les domaines d'application de spectrophotométrie UV-VISIBLE.....	20
7.1	Applications particulières.....	20
8	Les limites de la spectrophotométrie UV-visible .....	21
9	Conclusion :.....	21
<b>Chapitre II. METHODES CHIMIOMETRIQUES</b>		
1	Introduction .....	22
2	Définition .....	22
3	Classification des méthodes .....	23
3.1	Analyse qualitative .....	23
3.1.1	Analyse non supervisée (analyse exploratoire) .....	23
3.1.2	Analyse supervisée (classification ou discrimination) .....	23
3.2	Analyse quantitative .....	23
4	Etapes de l'analyse chimiométrique.....	23
5	Présentation des données.....	24
5.1	Qualité de l'échantillon .....	24
5.2	Evaluation préliminaire des données.....	25
5.2.1	Points aberrants .....	25
5.2.2	Erreurs de données .....	25
5.3	Prétraitement des données .....	25
5.4	Sélection des variables .....	26
6	Technique chimiométriques .....	27
6.1	Analyse en composantes principales.....	27
6.1.1	Principe général.....	27
6.1.2	Décomposition de la matrice X par l'ACP.....	28
6.1.3	Pré-traitements appliqués en ACP.....	29
6.1.4	Variances expliquées et variance résiduelles.....	30
6.1.5	Algorithmes .....	30
6.1.6	Limitations de l'ACP.....	31
6.1.7	Application de l'ACP .....	31

6.2	Régression des moindres carrés partiels (PLS) .....	32
6.2.1	Principe.....	32
6.2.2	Algorithme.....	32
6.2.3	Avantages et inconvénient.....	34
6.3	Réseaux de neurones artificiels (ANN).....	35
6.3.1	Introduction .....	35
6.3.2	Définition.....	36
6.3.3	Principe de l'ANN.....	37
6.3.4	Structure d'un ANN .....	37
6.3.5	Types de réseaux de neurones .....	38
6.3.6	Complexité des réseaux de neurone .....	38
6.3.7	Tâche des réseaux de neurones : .....	39
6.3.8	Transformation et traitement de données .....	40
6.3.9	Apprentissage .....	40
6.3.10	Avantages et inconvénients .....	44
7	Evaluation des modèles chimiométriques .....	45
7.1	L'objectif de l'évaluation .....	45
7.2	Taille et partition des ensembles des données .....	45
7.2.1	Ensemble d'apprentissage (calibration) : .....	46
7.2.2	Ensemble de validation : .....	46
7.2.3	Ensemble test : .....	46
7.3	Méthodes d'évaluation et de validation des modèles chimiométriques : .....	46
7.3.1	Validation interne ou validation en cours de modélisation : .....	46
7.3.2	Validation externe ou validation sur un jeu test : .....	47
8	Indicateurs de performance .....	47
8.1	Racine de l'Erreur Quadratique Moyenne (REQM) ou RMSE pour Root Mean Square Error	47
8.2	Erreur absolue moyenne (%) ou MAPE pour mean absolute percentage error.....	48
<b>Chapitre III. CYCLE DE VIE D'UNE METHODE ANALYTIQUE</b>		
1	Définition .....	49
2	Différentes phases du cycle de vie d'une méthode analytique.....	50
2.1	Sélection de la méthode.....	50
2.2	Développement et optimisation.....	50
2.3	Validation .....	51
2.4	Utilisation en routine .....	51
<b>Chapitre IV. VALIDATION DES METHODES CHIMIOMETRIQUES</b>		
1	Définition .....	53
2	Objectif.....	53
3	Catégorie de méthodes d'analyse .....	53

4	Aspects réglementaires.....	53
5	Critères de la validation.....	54
5.1	Choix des critères de la validation.....	54
5.2	Différents critères de la validation .....	54
5.2.1	Spécificité-sélectivité .....	54
5.2.2	Linéarité.....	55
5.2.3	Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire).....	55
5.2.4	Justesse .....	56
5.2.5	Exactitudes .....	56
5.2.6	Limite de détection (LOD) .....	57
5.2.7	Limite de quantification (LOQ).....	57
5.2.8	Intervalle de dosage.....	58
5.2.9	Sensibilité.....	58
5.3	Revalidation de la méthode .....	58
	<b>PARTIE II. PARTIE PRATIQUE.....</b>	<b>59</b>
1	Présentation du produit.....	59
1.1	Produit fini.....	59
1.1.1	Présentation du médicament ACTRON .....	59
1.1.2	Dénomination du médicament.....	59
1.1.3	Titulaire de l'autorisation de mise sur le marché .....	59
1.1.4	Composition de médicament ACTRON.....	60
1.1.5	Posologie et mode d'administration .....	60
1.1.6	Contre-indications .....	60
1.1.7	Mise en garde et précautions d'emploi.....	61
1.1.8	Interactions .....	62
1.1.9	Fertilité/Grossesse/ Allaitement .....	64
1.1.10	Effets indésirables .....	65
1.1.11	Surdosage .....	65
1.1.12	Pharmacocinétique .....	66
1.2	Principes actifs analysés .....	67
1.2.1	Acide acétylsalicylique.....	67
1.2.2	Paracétamol .....	70
1.3	Matériel .....	73
1.3.1	Equipements .....	73
1.3.2	Logiciel.....	73
1.4	Réactifs.....	74
2	Développement du protocole d'analyse par spectrophotométrie UV VISIBLE .....	75
2.1	Développement de la méthode de dosage.....	75
2.1.1	Choix de la méthode de dosage .....	75

2.1.2	Choix du solvant.....	75
3	Optimisation du protocole de préparation des solutions et choix des paramètres de l'analyse spectrale.....	77
4	Prévalidation.....	80
4.1	Evaluation de la linéarité de la fonction de réponse.....	00081
4.2	Evaluation de l'effet de matrice .....	88
4.3	Evaluation de la stabilité des solutions.....	90
4.4	Etude de l'interférence spectrale .....	94
5	La collecte des données .....	95
6	Régression PLS1 .....	101
6.1	Dosage de l'acide acétylsalicylique.....	101
6.2	Dosage du paracétamol : .....	109
7	Réseau de neurone.....	117
8	Validation des méthodes chimiométriques.....	133
8.1	Préparation des solutions.....	133
8.2	Enregistrement des spectres .....	135
8.3	Évaluation de la sélectivité.....	135
8.4	Évaluation de l'exactitude, de la fidélité et de la linéarité.....	136
8.4.1	Fonctions de réponse .....	136
8.4.2	Prédictions inverses.....	136
8.4.3	Estimation de la justesse, de la fidélité et de l'erreur totale .....	139
8.4.4	Profils d'exactitude.....	140
8.4.5	Interprétation des résultats et choix de la fonction de réponse.....	143
8.4.6	Evaluation de la linéarité de la méthode.....	144
8.5	Conclusion.....	146

## Résumé

L'objectif de ce travail était le développement et la validation de méthodes chimiométriques pour le dosage simultané de l'acide acétylsalicylique et de paracétamol dans le produit fini Actron (267mg/133 mg).

Deux modèles chimiométriques ont été développées basées sur la méthode de la régression des moindres carrés partiels (PLS1) et les réseaux neuronaux artificiels (ANN1).

La validation des modèles PLS1 a été réalisée grâce à un jeu de test externe en présence des excipients. Elle a montré que les modèles ont d'excellentes qualités prédictives avec des valeurs de la racine de l'erreur quadratique moyenne RMSEP et de l'erreur moyenne absolue MAPE de (0.463 ppm ; 3,212 %) et (0.120 ppm ; 1,987 %) pour l'acide acétylsalicylique et paracétamol, respectivement. Les deux réseaux de neurones développés se sont révélés également très efficaces pour doser simultanément et de façon très précise les deux principes actifs sans aucune interférence des excipients. Les valeurs de RMSEP et de MAPE étaient de (0,429 ppm ; 2,708 %) et (0.152 ppm ; 2.471 %) pour l'acide acétylsalicylique et paracétamol, respectivement.

Les méthodes développées ont été ensuite validées, selon le protocole de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) de 2006, dans un domaine de validité qui s'étend de 71.94 à 130% ppm et de 70 à 130 %ppm pour le dosage de l'acide acétylsalicylique et de paracétamol, respectivement. Ainsi, nous avons pu montrer qu'elles sont sélectives, justes, fidèles et linéaires.

Les méthodes développées sont respectueuses de l'environnement, simples, directes et ne nécessitent pas une séparation préalable de l'échantillon ou l'utilisation des instruments sophistiqués.

En conclusion, la spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible combinée aux méthodes chimiométriques offre la possibilité de mesurer simultanément et de façon très précise plusieurs analytes dans le même échantillon, ce qui rend cette approche très intéressante pour l'industrie et la recherche.

**Mots clés :** Chimiométrie ; Spectrophotométrie UV visible ; Régression des moindres carrés partiels ; Réseaux neuronaux artificiels ; Acide acétylsalicylique ; Paracétamol ; Analyse multi composants.

## Abstract

The objective of this work was the development and validation of chemometrics for the simultaneous determination of acetylsalicylic acid and paracetamol in the finished product Actron (267mg/133 mg).

Two chemometric models were developed based on partial least squares regression (PLS1) and artificial neural networks (ANN1).

The validation of the PLS1 models was performed with an external test set in the presence of excipients. It showed that the models have excellent predictive qualities with root mean square error RMSEP and mean absolute error MAPE values of ( 0.463 ppm; 3.212%) and (0.120 ppm; 1.987%) for acetylsalicylic acid and paracetamol, respectively.

The two neural networks developed were also found to be very effective in simultaneously and very accurately dosing both active ingredients without any interference from excipients. The RMSEP and MAPE values were (0.429 ppm; 2.708%) and (0.152 ppm; 2.471%) for acetylsalicylic acid and paracetamol, respectively.

The developed methods were then validated, according to the protocol of the French Society of Pharmaceutical Sciences and Techniques (SFSTP) of 2006, in a range of validity which extends from 71.94 to 130% ppm and from 70 to 130 %ppm for the determination of acetylsalicylic acid and paracetamol, respectively. Thus, we could show that they are selective, accurate, faithful and linear.

The developed methods are environmentally friendly, simple, direct and do not require prior separation of the sample or the use of sophisticated instruments.

In conclusion, ultraviolet and visible absorption spectrophotometry combined with chemometric methods offers the possibility to measure simultaneously and very precisely several analytes in the same sample, which makes this approach very interesting for industry and research.

**Keywords:** chemometrics; UV visible spectrophotometry; partial least squares regression; artificial neural networks; acetylsalicylic acid; paracetamol; multicomponent analysis.