

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de :

MASTER

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par

ALEM Mohamed lamine

CHEHRIT Lynda

Thème

**PROPOSITION D'UNE METHODE ALTERNATIVE (UV) POUR LE
DOSAGE DU PIROXICAM DANS UN PRODUIT FINI « GEL »,
COMPARAISON A UNE METHODE DE REFERENCE (HPLC)**

Soutenu le : 15 juillet 2015, devant le jury composé de :

Mr MOUSSAOUI Ramdane	MCA	Président
Mme MAKHLOUFI Malika	MCA	Examinatrice
Mr MAMOU Marzouk	MAHU	Promoteur
Mme MECHOUEK Dalila	INGENIEUR	Co-promotrice

Remerciements

Nous adressons nos remerciements à toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce projet de fin d'études.

En premier lieu, notre promoteur Dr M.MAMOU, nous reconnaissons le privilège que nous avons eu de travailler à ses côtés et de partager son savoir.

Nous lui témoignons notre profond respect.

Nous remercions également Mme MECHOUK.D, pour sa disponibilité ainsi que pour les efforts qu'elle a déployés afin de nous faciliter le travail. Merci à toute l'équipe du laboratoire contrôle qualité de l'unité de Dar el Beida de SAIDAL ; notamment Mr HEBBACHE.M, et Melle MANSOURI.N.

Mme FERNANE.F, le chef du département de chimie de l'UMMTO pour son suivi et son accessibilité à tout moment. Nos remerciements vont droits à Melle TOUZOUIRT.S et Mme BELMAHDI.L, pour le temps, les encouragements ainsi que les éclaircissements qu'elles nous ont apportés. Merci également à tout le personnel du département et les professeurs qui nous ont accompagnés jusqu'ici.

Mr TIGHERINE.H, doctorant au laboratoire de biochimie du département de pharmacie de l'UMMTO, qui a bien voulu partager ses connaissances avec nous.

Nous remercions Mr MOUSSAOUI le président du jury, ainsi que Mme MEKHLOUFI de nous avoir honorés de leur présence afin d'examiner et de juger notre travail.

Dédicaces

A ma mère qui me promulgue force et courage. Je ne saurai exprimer mon amour ainsi que ma gratitude.

A mon père, homme sage et bon, donnant toujours le meilleur de lui-même afin que je puisse aller de l'avant.

Merci pour tous les choix, tous les sacrifices consentis qui font la personne que je suis.

A mon frère pour qui j'ai un profond respect.

A ma famille, large, que j'affectionne.

A mes jeunes cousins Ali et Madel pour leur disponibilité et leur soutien.

A tous mes amis du lycée, de la fac, de la bibliothèque, merci pour votre présence et vos encouragements.

A toute ma promotion.

Lynda

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents ; aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez, que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne m'en acquitterai jamais assez.

A mes deux frères, à ma cher grand-mère, que dieu les garde.

A tous mes amis avec lesquels je partage des moments de joie et de bonheur.

A tous les membres de l'association « BIG HEART » avec lesquels je passe de merveilleux moments.

A toute la promo chimie pharmaceutique 2015, ainsi qu'à tous mes enseignants.

Mohamed lamine

LISTE DES ABREVIATIONS :

% : pourcentage.

λ : longueur d'onde.

μ l : microlitre.

°C : degrés Celsius.

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien.

AIS : Anti-inflammatoire stéroïdien.

cm : centimètre

COX : Cyclo-Oxygénase

ddl : degrés de liberté.

g : gramme.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

Kg : Kilogrammes.

l : litres.

M : molaire.

min : minutes.

ml : millilitre.

mm : millimètre

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

nm : nanomètre

p.a : principe actif.

PCA : Pharmacie Centrale Algérienne.

PEG : Polyéthylène Glycol.

pH : potentiel d'hydrogène.

UV : Ultra-Violet.

UV/Jour : unités de vente par jour.

LISTE DES FIGURES

Figure1 : Structure du 1,2-benzothiazine-4(3H) one 1,1-dioxide.....	7
Figure2 : Structure du piroxicam (4-hydroxy-2-méthyl-N-(2-pyridyl)-1,2-benzothiazine-3-Carboxamide-1,1-dioxide).....	7
Figure3 : Mécanisme réactionnel de la synthèse du piroxicam.....	8
Figure4 : Représentation schématique du mécanisme de l'inflammation et de l'action du Piroxicam.....	9
Figure5 : Coupe schématique de la peau.....	11
Figure6 : Zone de rejet de H0 (test unilatéral).....	15
Figure7 : Zone de rejet de H0 (test bilatéral).....	15
Figure8 : Courbe d'évolution des fréquences cumulées.....	17
Figure9 : Courbe de la droite de Henry.....	18
Figure10 : Histogrammes de répartition des densités pour chaque classe de l'HPLC.....	31
Figure11 : Courbe d'évolution des fréquences cumulées en fonction du dosage obtenu par HPLC.....	32
Figure12 : Histogrammes de répartition des densités pour chaque classe de l'UV.....	33
Figure13 : Courbe d'évolution des fréquences cumulées en fonction du dosage obtenu par UV.....	34
Figure14 : Histogramme de répartition des densités pour chaque classe des différences...	35
Figure15 : Courbe d'évolution des fréquences cumulées en fonction des différences des deux dosages.....	36

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Propriétés physico-chimiques du Piroxicam.....	7
Tableau II : Notion de risques d'erreurs.....	14
Tableau III : Eléments du calcul des résultats des dosages.....	27
Tableau IV : Résultats des teneurs obtenues après calculs.....	28
Tableau V : Coefficient de variation des standards pour l'HPLC.....	29
Tableau VI : Coefficient de variation des standards pour l'UV.....	29
Tableau VII : Calcul du facteur de similarité.....	29
Tableau VIII : Statistiques descriptives des deux échantillons.....	30
Tableau IX : Résultats du test de Kolmogorov-Smirnov pour les teneurs obtenues par HPLC...	30
Tableau X: Présentation des résultats de dosage par HPLC sous forme de classes.....	31
Tableau XI : Résultats du test de Kolmogorov-Smirnov pour les teneurs obtenues par UV.....	32
Tableau XII : Présentation des résultats de dosage par UV sous forme de classes.....	33
Tableau XIII : Résultats du test de Kolmogorov-Smirnov pour les différences.....	34
Tableau XIV : Présentation des résultats des différences sous forme de classes.....	35
Tableau XV : Résultats du test de Fisher pour les deux échantillons.....	37
Tableau XVI : Résultats du test de Student pour les deux échantillons appariés.....	38

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	1
----------------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

GROUPE SAIDAL

I-HISTORIQUE.....	2
II-LES DIFFERENTES FILIALES.....	3
III-SITE DE PRODUCTION DE DAR EL BEIDA.....	3
III-1-Présentation de l'unité.....	3
III-2-Les objectifs de l'unité.....	4
III-3-Les structures de l'unité.....	4
III-4-Capacité et volume de production.....	5

CHAPITRE II

ANTI-INFLAMMATOIRES ET PIROXICAM GEL

I-INTRODUCTION.....	6
II-LES ANTI-INFLAMMATOIRES.....	6
II-1/Les anti inflammatoires stéroïdiens.....	6
II-2/Les anti inflammatoires non stéroïdiens.....	6
II-3/Principales familles chimiques des AINS.....	6
III-LE PIROXICAM.....	7
III-1/Structure et propriétés physico-chimiques du piroxicam.....	7
III-2/Solubilité du piroxicam.....	8
III-3/Synthèse du piroxicam.....	8
III-4/Mode d'action du piroxicam.....	9
III-5/Pharmacocinétique du piroxicam.....	10

IV-LES GELS.....	11
IV-1/Qu'est ce qu'un gel.....	11
IV-2/Mécanisme d'action des gels.....	11
IV-3/Tests et contrôles effectués sur les gels.....	12

CHAPITRE III

LES OUTILS STATISTIQUES

I-INTRODUCTION.....	13
II-TESTS D'HYPOTHESES.....	13
II-1/Définition.....	13
II-2/Méthodologie du test.....	13
II-3/Risques d'erreurs.....	14
II-4/Notion de puissance du test.....	14
II-5/Notion de tests unilatéral et bilatéral.....	15
III-CHOIX DU TEST.....	16
III-1/Tests paramétriques.....	16
III-2/Tests d'ajustement.....	16
III-3/Tests non paramétriques.....	18
III-4/Tests non libres de distribution.....	19

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE IV

MATERIEL, METHODES, RESULTATS ET DISCUSSIONS

I-INTRODUCTION.....	20
II-MATERIELS ET METHODES.....	20
II-1.Matériel.....	20
II.1.1.Produits et réactifs.....	20
II.1.2.Verrerie et consommable.....	20

II.1.3.Equipements.....	20
II.1.4.Outils informatiques.....	21
II.2.Méthodes.....	21
A. Dosage du piroxicam par HPLC dans le produit fini prixam 0.5%.....	21
B. Dosage du piroxicam par UV dans le produit fini prixam 0.5%.....	22
II.3.Outils statistiques.....	24
II.3.1.Rappels sur les paramètres d'un échantillon.....	24
II.3.2.Etude de la normalité.....	24
II.3.3.Etude de l'homogénéité des variances.....	25
II.3.4.Etude de la comparaison des moyennes.....	25
III-RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	27
III-1.Traitement statistique des résultats de dosage.....	28
III-1.1.Calcul des coefficients de variations des standards.....	29
III-1.2.Calcul des facteurs de similarité.....	29
III-2.Vérification de la normalité des résultats de dosage.....	30
III-3.Test de Fisher-Snedecor (Homogénéité des variances).....	37
III-4.Test de Student (échantillons appariés).....	38
IV-Conclusion.....	39
CONCLUSION GENERALE.....	40
Références bibliographiques	
Glossaire	
Annexes	

INTRODUCTION GENERALE

Les méthodes chromatographiques et spectrophotométriques sont largement utilisées aussi bien en laboratoire qu'en industrie. La chromatographie est une technique d'analyse utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage des constituants de mélanges liquides ou gazeux homogènes. Il existe différentes techniques selon la nature de la phase mobile. La plus répandue de toutes est celle en phase liquide : Chromatographie Liquide Haute Performance ; notée CLHP (couramment HPLC en anglais). En plus des applications connues de toute technique chromatographique, l'HPLC recouvre un champ d'application plus large d'où son intérêt.

La spectrophotométrie est basée sur l'interaction d'atomes ou de molécules avec des rayonnements électromagnétiques. Elle permet d'obtenir la composition et la structure de la matière. L'absorption de radiations lumineuses par la matière entre 180 et 1100 nm correspond à la plage spectrale de l'ultraviolet et du visible ; elle réunit les radiations perceptibles par l'œil.

Ces deux techniques ont en commun d'être des techniques d'analyse quantitative. C'est pour cette raison que nous les avons choisies afin de doser le piroxicam. Ce dernier étant une substance active retrouvée dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques dont les formes pâteuses telles que les gels.

Le gel Prixam, produit par l'industrie pharmaceutique nationale SAIDAL, est le support de notre principe actif, le piroxicam.

Notre travail consiste en la comparaison des deux techniques d'analyse HPLC et spectrophotométrie UV en ce qui concerne le dosage du piroxicam. Pour ce faire, nous utiliserons des outils de la statistique inférentielle tels que les tests d'hypothèses.

Le présent mémoire s'articule autour de deux parties : une partie bibliographique subdivisée en trois chapitres. Le premier étant consacré au groupe national SAIDAL. Dans le chapitre suivant, on y retrouve quelques informations sur le piroxicam, principe actif du gel Prixam. Dans le dernier chapitre sont énoncés et présentés tous les outils statistiques nécessaires à notre étude.

La deuxième partie est expérimentale. On y retrouve les protocoles expérimentaux de nos dosages ainsi que les résultats qui y découlent.

Chapitre I : SAIDAL

Le groupe industriel SAIDAL est une société par action (SPA) dont le capital social s'élève à près de 2.500.000.000 dinars algériens. Il a pour mission de développer, produire et commercialiser les produits pharmaceutiques à usage humain et vétérinaire. SAIDAL est considéré actuellement comme le leader algérien de l'industrie pharmaceutique avec une grande part de marché.

I-Historique :

- 1969 : Création de la pharmacie centrale algérienne (PCA) ayant pour mission d'assurer le monopole de l'Etat en ce qui concerne l'importation, la fabrication et la commercialisation de produits pharmaceutiques à usage humain
- 1971 : l'Unité de Production d'El Harrach est créée et la PCA rachète Biotic et Pharmal
- 1982 : La branche de production de l'Unité de production d'EL Harrach est érigée en entreprise nationale de production pharmaceutique (ENPP)

Elle doit avoir le monopole sur la production ainsi que sur la distribution des médicaments, produits pharmaceutiques et de réactifs en approvisionnant de manière satisfaisante le marché algérien.

- 1985 : l'ENPP change de dénomination pour SAIDAL
- 1997 : Restructuration de SAIDAL
- 1998 : trois filiales issues de la restructuration sont rattachées à SAIDAL. On cite Biotic, Pharmal , Antibiotical

II-Les différentes filiales :

❖ Pharmal :

Elle dispose de trois unités de production

L'Unité de Dar El Beida est chargée de produire une gamme de médicaments très large dont plusieurs formes galéniques : Comprimés, Gélules, Sirops, Formes pâteuses...etc.

Unité de Annaba est spécialisée dans la fabrication des formes sèches (comprimés et Gélules)

Unité de Constantine est spécialisée dans la fabrication des formes liquides.

❖ Antibiotical :

Est située à Médéa et est spécialisée dans la production des antibiotiques pénicilliniques et non pénicilliniques.

❖ Biotic :

Cette filiale offre un large éventail de médicaments.

Elle dispose de trois unités de production :

- Unité Gué de Constantine qui est spécialisée dans la fabrication des formes galéniques : comprimés, Suppositoires, ampoules buvables, solutés massifs, poches et flacons
- Unité El Harrach est spécialisée dans la fabrication des sirops, solutions, comprimés, dragées et pommades
- Unité de Cherrhell est spécialisée dans la fabrication des solutions buvables (sirops), formes sèches (comprimé, sachet poudre, gélule) et de la concentrée d'hémodialyse sous ses trois formes (acide, basique et acétate)
- Unité de Batna est spécialisée dans la fabrication des suppositoires

III-Site de production de Dar El Beida :

III-1-Présentation de l'unité :

L'unité de Dar el Beida est considérée comme l'unité la plus ancienne parmi les unités de Pharmal. Cette unité existe depuis 1958, elle appartenait au laboratoire Français LABAZ avant sa nationalisation en 1970, elle a été rattachée à 51%, et en 1976 à 100% par l'ex PCA ce qui a donné lieu aux transformations suivantes :

- La mise au point des produits pharmaceutiques algériens ;
- Modernisation des chaînes et des ateliers ;

L'activité de cette unité était limitée à la fabrication de quelques médicaments et produits cosmétiques, mais actuellement elle produit une gamme de médicaments très large sous plusieurs formes galéniques :

- Comprimés.
- Gélules.
- Sirops.
- Forme pâteuses.
- Suspension buvable.
- Solution dermique.

L'unité de Dar el Beida est caractérisée par :

- Une capacité de production très importante (43 millions d'unités de vente par an).
- Un savoir faire élevé dans le domaine de la production, contrôle et analyse.
- Une surface de stockage de 6.600 m² (4.600 palettes).

III-2-Les objectifs stratégiques de l'unité :

- Augmenter la rentabilité de l'unité.
- La recherche de la satisfaction totale du client par la mise en place progressive du processus de management de la qualité.
- Le développement des systèmes d'information, de communication et de marketing.
- L'amélioration du savoir faire du personnel.
- Le développement du partenariat.
- L'innovation.

III-3- Les structures de l'unité :

L'unité de Dar El Beida est constituée de cinq directions :

a) Direction commerciale : Ses principales taches sont :

- Assurer la planification des approvisionnements.
- Coordonner les prévisions annuelles et pluriannuelles de l'ensemble des achats de l'unité.
- Assurer l'achat des matières premières, articles de conditionnement, pièces de rechange, consommable, réactifs de laboratoire conformément aux exigences préétablies.
- Préparer et suivre les inventaires.
- Coordonner la gestion des stocks en matières premières, articles de conditionnement consommable et produits finis.
- Elaborer en relation avec la direction des ressources humaines, le plan de formation pour son personnel.
- Appliquer les règles d'hygiène et sécurité au niveau du magasin central.
- Assurer la gestion de la documentation et la diffusion de l'information.

b) Direction des ressources humaines:

c) Direction technique

La direction technique a pour mission de coordonner et de contrôler les activités liées à la production des produits pharmaceutiques et au contrôle de leur qualité.

- **Laboratoire contrôle qualité** où plusieurs opérations assurant la qualité des matières premières, effectuant les analyses physico-chimiques et microbiologiques qui s'imposent au cours de la production et pour le produit fini.
- **La direction de production :**

Il est question de :

Chapitre I : SAIDAL

- Elaborer en relation avec la direction commerciale, le plan prévisionnel de la Production.
- Assurer la réalisation du programme de production à 100%.
- Garantir l'harmonisation des étapes de production.
- Participer au choix des plans de production de l'unité.

d) La direction des Finances et Comptabilité :

e) La direction maintenance :

Cette direction effectue les opérations qui permettent de conserver l'état du matériel en assurant la continuité et la qualité de la production.

III-4-Capacité et volume de production :

- Un atelier des sirops avec une capacité de production de 40.000 U.V/ jour.
- Un atelier de produits secs avec une capacité de production de :

- ❖ Gélules : 50.000 UV/ jour
- ❖ Comprimés : 74.000 UV/ jour

- Un atelier des pâteux avec une capacité de production de :

- ❖ Dentifrice : 50.000UV/ jour
- ❖ Autre : 22.500 UV/ jour.

I-Introduction :

Dans le cas d'une agression pathogène, l'organisme répond par une réaction défensive dont l'un des aspects se traduit par une inflammation.

Cette réaction peut entraîner des phénomènes désagréables ou pénibles. Les médicaments ainsi utilisés afin de soulager, prévenir et/ou combattre sont dit anti-inflammatoires. Concrètement, ils atténuent ou suppriment les symptômes sans agir sur les causes ni les facteurs.

Les anti-inflammatoires sont subdivisés en deux catégories principalement :

- Les Anti inflammatoires stéroïdiens
- Les Anti inflammatoires non stéroïdiens

II-Les Anti-inflammatoires :

II-1/Les anti-inflammatoires stéroïdiens :

Ce sont des dérivés semi-synthétiques des hormones corticosurréaliennes, plus précisément des glucocorticoïdes. Ils ont de multiples mécanismes d'action ce qui rend compte de la multiplicité de leurs propriétés pharmacodynamiques, du grand nombre de leurs indications et de leurs effets indésirables.

Ce sont des médicaments strictement de prescription que ce soit en médecine généralisée qu'en spécialisée. [1]

II-2/Les anti-inflammatoires non stéroïdiens :

Il s'agit de la classe pharmaco-thérapeutique la plus utilisée aussi bien en prescription qu'en auto-médication. On les appelle également les anti-inflammatoires non hormonaux car ils ne sont pas apparentés à des hormones (stéroïdes)

Les AINS comportent un bon nombre de substances qui appartiennent à plusieurs familles chimiques dont le point commun est d'être des acides faibles.

Ils possèdent, en plus de l'effet anti inflammatoire, des effets antipyrétique et analgésique. [1]

Leur mode d'action résulte en l'inhibition de la synthèse des prostaglandines, réaction consécutive à celle de l'inhibition (généralement réversible) de la synthèse des isoenzymes de la cyclo-oxygénase notée COX.

On classe les AINS selon leur famille chimique, leur demi vie, leur spécificité anti-COX. [2]

II-3/Principales familles chimiques des AINS : [3]

- Dérivés d'acide salicylique : l'Acide Acétylsalicylique (Aspirine).
- Dérivés d'acide propionique : l'Ibuprofène.
- Les Fénamates : l'acide Méfénamique.
- Les Arylcarboxyliques : le Diclofénac.
- Les Indoliques : l'Indométacine.
- Les Oxicams: le Piroxicam

III- Le Piroxicam : [3]

Il appartient à la famille des oxicams qui est une classe de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) structurellement apparentés à la classe de l'acide énolique du 4-hydroxy-1,2-benzothiazine carboxamide. Ils sont utilisés pour traiter l'inflammation aiguë et chronique par inhibition de l'activité des isoformes des deux cyclo-oxygénases (COX) ; COX-1 et COX-2.

Ils sont structurellement distincts de tous les autres AINS, présentant une pose de liaison dans le site actif de la COX.

Le Piroxicam est actuellement l'un des AINS les plus largement utilisés pour le traitement des états inflammatoires chez les patients souffrant de rhumatisme.

C'est un dérivé du 1,2-benzothiazine 1,1-dioxyde. L'importance du 1,2-benzothiazine provient du fait que, depuis le moment de sa première synthèse par Braun en 1923, des milliers de ses dérivés ont été synthétisés et trouvés biologiquement actifs comme analgésiques, antipyrétiques, hypoglycémiques, anti-hypertensives, anti-inflammatoires...etc.

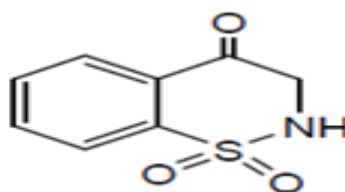


Figure 1 : 2,3 dihydro benzo(e)-1,2-thiazin 4-one-1,1-dioxyde

III-1/Structure et propriétés physico-chimiques du Piroxicam : [4]

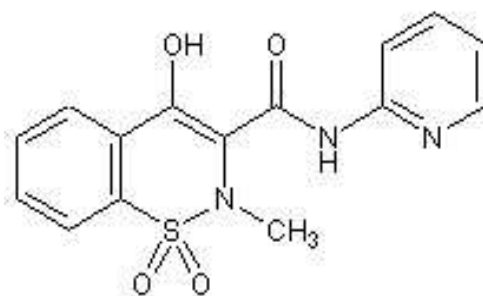


Figure 2 : Structure du piroxicam (4-hydroxy-2-méthyl-N-(2-pyridyl)-2,3 dihydro benzo(e)-1,2-thiazin 4-one-1,1-dioxyde)

Tableau I : Propriétés physico-chimiques du Piroxicam.

Formule brute	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S
Masse molaire	331.36 g/mo
pKa	6.3
Point de fusion	198-200°C

III-2/ Solubilité du piroxicam : [5]

Le piroxicam est, à température ambiante :

- Insoluble dans l'eau et le cyclohexane.
- Peu soluble dans l'éther isopropylique et le toluène.
- Légèrement soluble dans les alcools tels que le méthanol.
- Soluble dans les solvants polaires comme le chloroforme.

III-3/Synthèse du piroxicam : [3]

La synthèse du 4-hydroxy-2-méthyl-N-(2-pyridinyl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide (piroxicam) se fait selon les réactions suivantes :

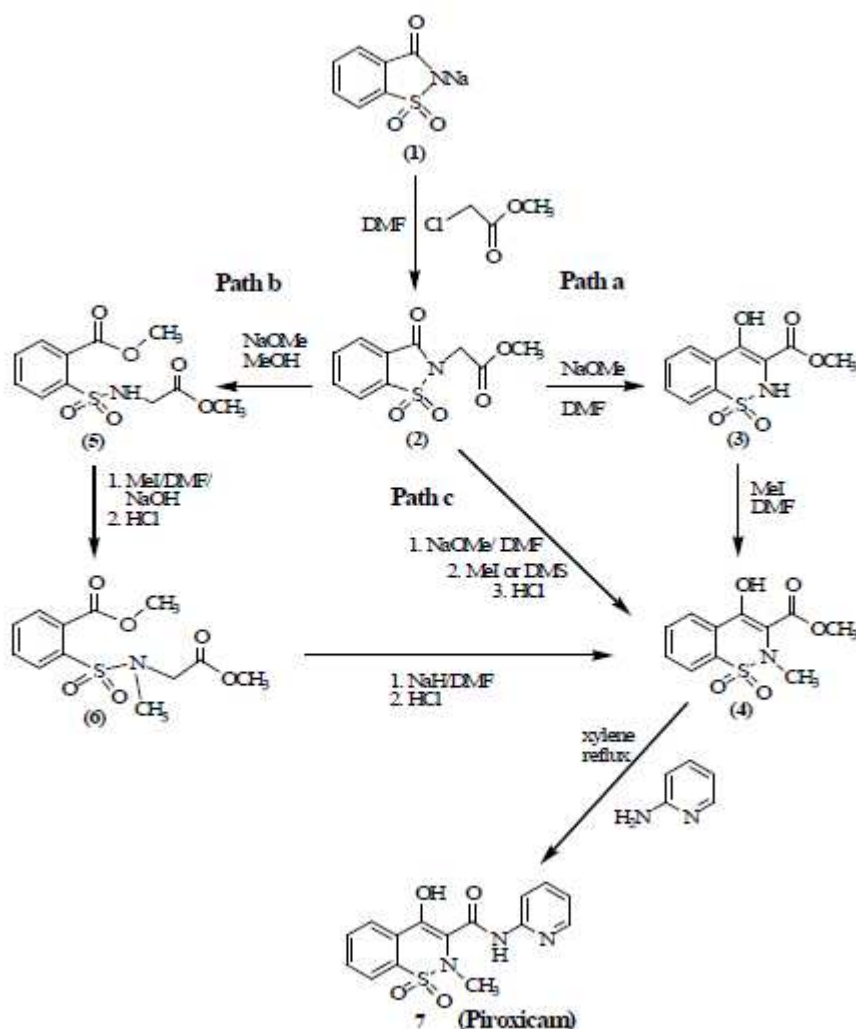


Figure 3 : Mécanisme réactionnel de la synthèse du piroxicam. [3]

III-4/Mode d'action du Piroxicam :[3]

Le processus inflammatoire faisant intervenir un grand nombre de substances présentes dans le sang, comme de nombreuses hormones, les prostaglandines, l'histamine et les cytokines.

Les prostaglandines étant la cause principale de l'inflammation, sont synthétisées par l'acide arachidonique, en faisant intervenir une enzyme qui est la cyclo-oxygénase (Cox).

Le Piroxicam agit en inhibant l'action des Cox (Cox 1 et Cox 2), entraînant une baisse de la production des prostaglandines, ce qui entraîne une diminution des effets de l'inflammation.

Stimuli inflammatoire → **perturbation de la membrane cellulaire**

(Blessures, micro organismes,
et allergènes)

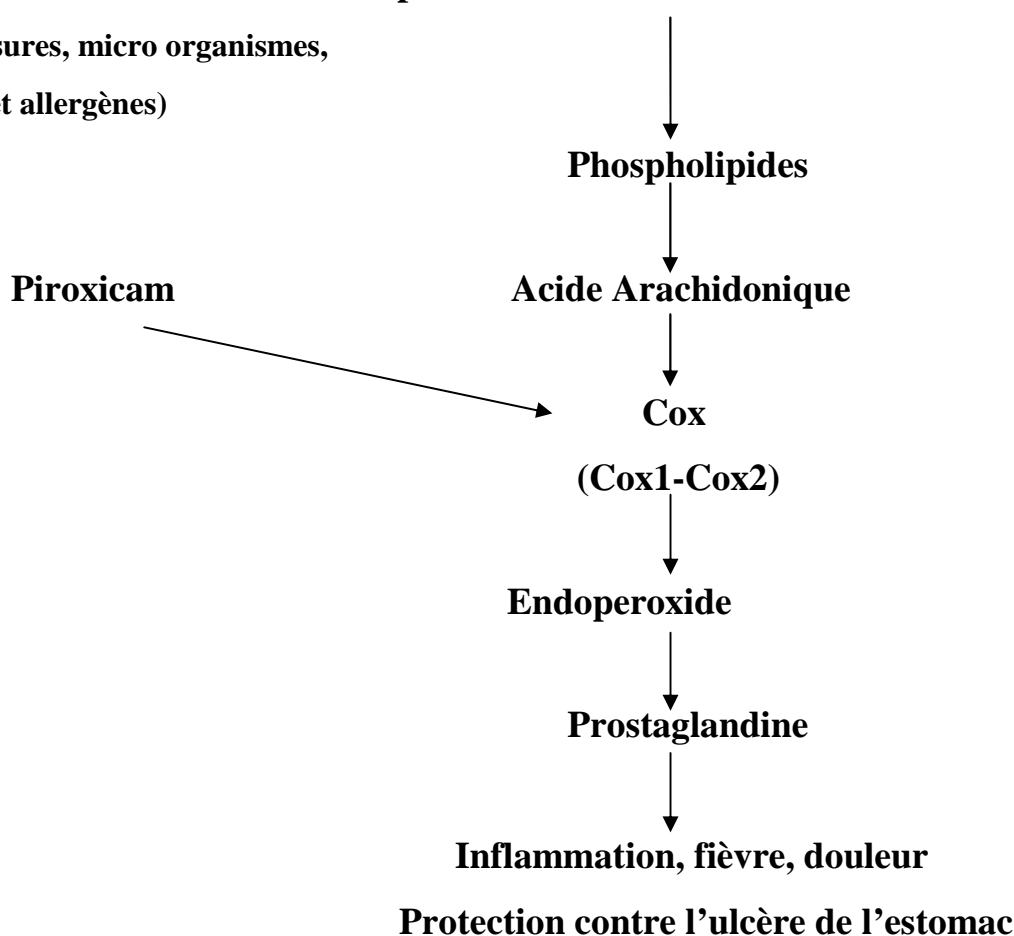


Figure 4 : Représentation schématique du mécanisme de l'inflammation et de l'action du Piroxicam.
[3]

III-5/Pharmacocinétique du piroxicam : [6]

III-5-1/Absorption :

Appliqué localement sous forme de gel, le piroxicam est absorbé lentement à travers la peau. Il s'accumule peu dans l'organisme. Le passage systémique du gel par rapport à celui des formes orales de piroxicam est de l'ordre de 5%.

III-5-2/Distribution :

La demi-vie plasmatique est d'environ 50 heures. La fixation aux protéines plasmatiques est importante : de l'ordre de 99%.

III-5-3/Métabolisme-Excrétion :

Le piroxicam est éliminé lentement. Il est presque totalement métabolisé. Une proportion importante est éliminée dans les urines sous forme d'hydroxy-5-métabolite.

IV-Les Gels :

IV-1/Qu'est ce qu'un gel ?[7]

Un gel est une préparation semi solide homogène pour application cutanée, constitué de liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants (excipients particuliers).

Grâce aux excipients utilisés on peut distinguer deux types de gels qui sont :

- Gels hydrophobes : les excipients utilisés sont des huiles, ou des paraffines.
- Gels hydrophiles : dans ce cas les excipients utilisés sont l'eau, la glycérine ou le PEG.

IV-2/Mécanisme d'action des gels :[8]

Toute substance appliquée sur la peau va migrer selon un processus qui s'apparente à la loi de Fick (flux de diffusion à travers une membrane semi perméable est proportionnelle à la différence de concentrations de part et d'autre de la membrane), ce phénomène de diffusion qui s'exerce au niveau de chacune des couches de la peau se divise en plusieurs étapes :

- **Pénétration** : le p.a se sépare de son excipient et se dissout dans le film hydrolipidique pour traverser la barrière cutanée, il pénètre dans le stratum corneum à travers les espaces intercellulaires.
- **Perméation** : diffusion du p.a dans les différentes couches de l'épiderme, et du derme.
- **Résorption** : au niveau du derme, le p.a entre en contact avec le système vasculaire capillaire qui se charge d'en résorber une partie, qui passe alors dans la circulation générale pour fournir une action systémique.

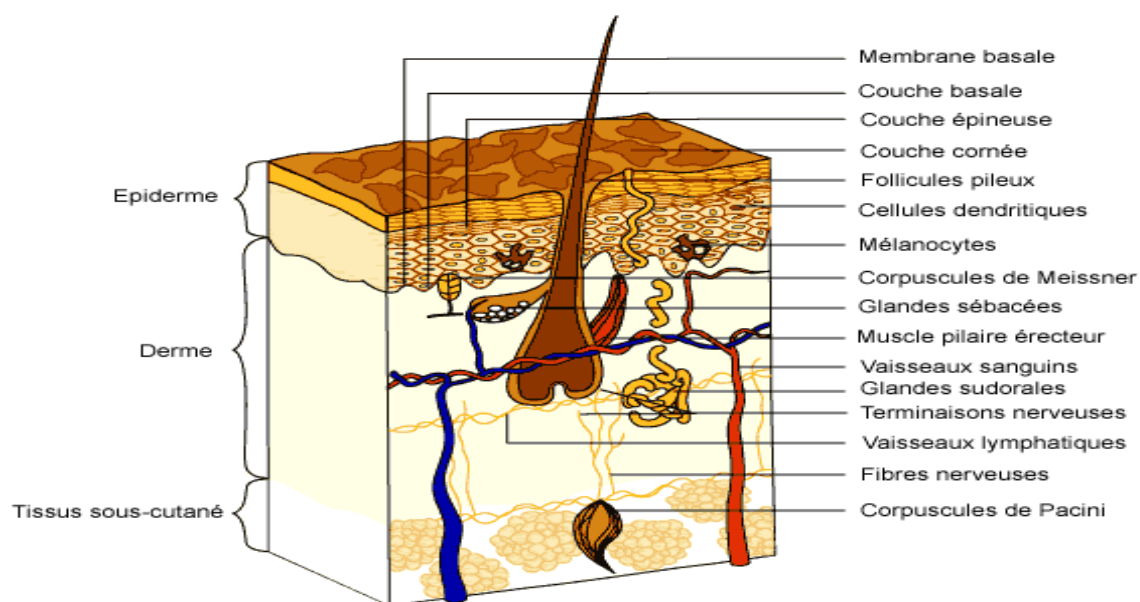


Figure 5 : Coupe schématique de la peau.

IV-3/Tests et contrôles effectués sur les gels : [7]

Aspect : à l'œil nu ou à l'aide d'un microscope, on vérifie l'homogénéité de la préparation.

Poids : permet d'apprécier les pertes survenues en cours de préparation.

Consistance : détermine la consistance des gels et des formes semi solides en général à l'aide du cône de Mahler.

Viscosité : à l'aide d'un viscosimètre on vérifie la viscosité du gel.

pH : on vérifie le pH du gel à l'aide d'un pH-mètre.

I-Introduction :

Les statistiques permettent de traiter les résultats obtenus lors de l'expérimentation ou de phénomènes aléatoires.

Les tests statistiques vont proposer une estimation d'un des paramètres du phénomène étudié. Ils sont basés sur des hypothèses d'où l'appellation de tests d'hypothèses.

II-Tests d'hypothèses :

II-1/Définition :

Il s'agit d'une procédure permettant de contrôler (accepter ou rejeter) à partir de l'étude d'un ou plusieurs échantillons aléatoires, la validité d'hypothèses relatives à une ou plusieurs populations. [9]

Ce procédé nous permettra de déterminer à la fin, avec une probabilité donnée, si les différences constatées au niveau des échantillons peuvent être imputables au hasard ou si elles sont suffisamment importantes pour signifier que les échantillons proviennent de populations vraisemblablement différentes. [10]

Afin de pouvoir utiliser ces tests, certaines conditions doivent être vérifiées telles que :

- Les observations au sein d'un échantillon doivent être indépendantes.
- La variable mesurée au sein de l'échantillon doit avoir une distribution normale
- Pour les tests d'égalité (homogénéité) tel que le test de Student, l'égalité des variances (homoscédasticité) entre les échantillons doit être respectée. [11]

Les deux hypothèses entre lesquelles un choix doit être fait sont notées : H_0/H_1

Le choix de l'hypothèse nulle joue un rôle essentiel dans la suite du test : on choisit souvent, celle qui est en vigueur jusque là, « celle en qui on a le plus confiance ». [12]

II-2/Méthodologie du test : [13]

- Définition d'une situation de départ

On doit d'abord définir une situation de départ : on dispose d'une série ou d'un tableau de valeurs observées et on pose une problématique

- Etape préliminaire :

On identifie la ou les variables aléatoires sous-jacentes aux valeurs observées, et leurs lois, puis traduire la question posée en une hypothèse H_0 énoncée formellement en référence, soit à un (ou plusieurs) paramètre(s) de la loi identifiée, soit globalement à la nature de la loi. Cela étant fait, on peut alors choisir un test d'hypothèse adapté au problème étudié.

- Exécution du test :

Il s'agit des calculs. A chaque test est associée une variable aléatoire positive qui sera d'autant plus grande que les observations s'écarteront de l'hypothèse H_0 .

Les formules indiquées pour chaque test permettent de calculer la valeur observée de la variable de test, que l'on notera $y_{obs.} = (t, F, U, \dots)$.

- Formulation de la conclusion

Elle consiste en la décision de rejet ou non de l'hypothèse nulle.

II-3/Risques d'erreurs :

On distingue deux types de risques :

– **Le risque de première espèce :**

Il est noté α . Il traduit le risque de rejeter à tort l'hypothèse nulle H_0 lorsqu'elle est vraie, ou d'accepter H_1 alors qu'elle est fausse. [13]

Dans l'élaboration d'un test, le risque de première espèce est choisi, et ce choix permet ensuite de déterminer la région critique à l'aide de la loi de probabilité de la variable.

On retrouve également le niveau de test qui est la borne supérieure de α . [12]

On appelle p-value, la plus petite valeur de α conduisant à rejeter l'hypothèse nulle. On peut ainsi exprimer le test comme tel :

- Si p-value est inférieure à α : H_0 rejetée
- Si p-value est supérieure à α : H_0 non rejetée

On définit le degré de signification du test comme tel : lorsque H_0 est rejetée, plus le p-value est faible, plus fort est le rejet de H_0 . [11]

– **Le risque de seconde espèce**

Il est noté β . Il traduit le risque de ne pas rejeter H_0 alors qu'elle est fausse ou de rejeter H_1 alors qu'elle est vraie. [13]

Les deux risques cités α et β sont antagonistes ; en effet, quand l'un est grand le second est faible. [14]

Tableau II : Notion de risque d'erreurs.

		Réalité (à jamais inconnus)	
		H_0 est vraie	H_0 est fausse
Décision	H_0 rejetée	MAUVAISE DECISION Erreur de type I (α) : probabilité de rejeter H_0 alors que H_0 est vraie	BONNE DECISION Puissance ($1-\beta$) : probabilité de rejeter H_0 alors que H_0 est fausse
	H_0 non rejetée	BONNE DECISION ($1-\alpha$) : probabilité de ne pas rejeter H_0 alors que H_0 est vraie	MAUVAISE DECISION Erreur de type II (β) : probabilité de ne pas rejeter H_0 alors que H_0 est fausse

II-4/Notion de puissance du test :

La puissance du test est la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle à raison c'est-à-dire lorsqu'on est « en vérité » dans le cadre de l'hypothèse alternative.

On peut donc dire que la puissance du test est le complément de l'erreur de deuxième espèce β , noté $(1-\beta)$.

Si le risque de seconde espèce β est élevé alors la puissance $(1-\beta)$ est faible. [11]

II-5/Notion de tests unilatéral et bilatéral :

Ils concernent les tests paramétriques que nous détaillerons par la suite.

– *Test de type unilatéral :*

Il qualifie un test paramétrique où l'on teste l'hypothèse nulle $H_0 : \theta = \theta_0$ contre l'hypothèse alternative unilatérale $H_1 : \theta < \theta_0$ ou $H_1 : \theta > \theta_0$ [13]

Il permet, par exemple, de trancher entre deux paramètres afin de savoir lequel est supérieur ou inférieur à l'autre.

La zone de rejet de l'hypothèse principale est située d'un seul côté de la distribution de probabilité de référence. [14]

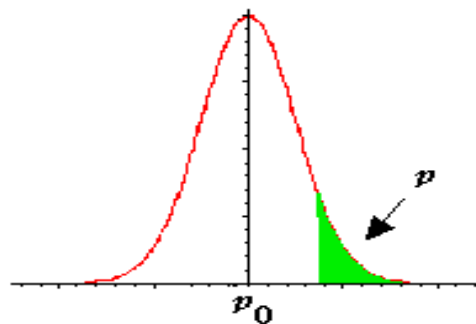


Figure 6 : zone de rejet de H_0 (test unilatéral)

– *Test de type bilatéral :*

Il qualifie un test paramétrique où l'on teste l'hypothèse nulle $H_0 : \theta = \theta_0$ contre l'hypothèse alternative bilatérale $H_1 : \theta \neq \theta_0$.

Il s'applique lorsqu'il est question de différence entre deux paramètres, ou entre un paramètre et une valeur donnée sans se préoccuper du signe ou du sens de la différence. Par exemple, essayer de savoir si deux paramètres sont assimilables ou non. [13]

Dans ce cas, la zone de rejet de l'hypothèse principale se fait de part et d'autre de la distribution de référence [14]

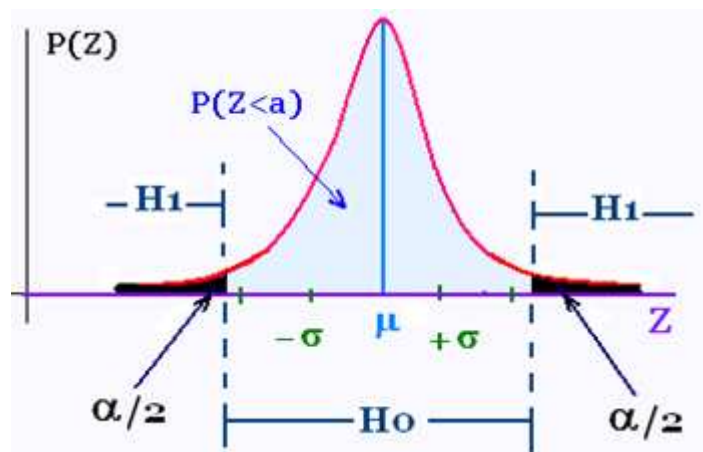


Figure 7 : zones de rejet de H_0 (test bilatéral)

Le choix d'un test unilatéral ou bilatéral dépend de la logique de la situation expérimentale. Les tables sont généralement adaptées au fonctionnement des tests bilatéraux. La valeur critique de la variable de test pour le risque unilatéral α est égale à la valeur critique donnée par la table pour le risque bilatéral 2α . [13]

III-Choix du test : [15]

Différents tests statistiques sont à notre disposition, nous en citerons :

- Tests paramétriques.
- Tests d'adéquation.
- Tests non paramétriques.
- Test non libre de distribution.

Le choix du test est guidé par la question posée et la structure des données issues de l'expérience.

III-1/Tests paramétriques : [15]

Ont pour but d'établir une égalité de certains paramètres qui sont généralement la moyenne, l'écart type et la variance.

➤ **Tests paramétriques sur un échantillon : [15]**

La question posée revient à comparer la caractéristique d'un échantillon (moyenne, écart-type, proportion) à une valeur de référence connu a priori. Dans le cas dit paramétrique, l'échantillon est supposé issu d'une distribution gaussienne ou binomiale.

- Test sur la moyenne d'une loi gaussienne.
- Test sur l'écart-type d'une loi gaussienne.
- Test sur une proportion.

➤ **Comparaison de deux échantillons : [15]**

L'objectif est de comparer des caractéristiques de deux populations à l'aide d'échantillons extraits de chacune d'elle

- Deux échantillons indépendants.
- Deux échantillons appariés.

➤ **Comparaison de plusieurs échantillons : [15]**

La comparaison des moyennes de plusieurs échantillons se présente sous une forme générale en considérant les m échantillons comme les m classes d'unités statistiques.

Comparer les moyennes d'une variable quantitative Y revient alors à s'intéresser à l'influence possible de la variable qualitative X sur la variable quantitative Y .

III-2/Tests d'ajustement : [15]

A partir de l'observation d'un échantillon de taille n issu d'une loi de fonction de répartition F , nous souhaitons tester si $F=F_0$, ou F_0 est une fonction de répartition que l'on se donne.

Il s'agit donc de démontrer que X_i suit une loi donnée.

– Test du Chi-deux χ^2 : [15]

Utilisé pour se renseigner sur l'indépendance des caractères de deux échantillons, il utilise des propriétés de la loi multinomiale. Il permet de juger si une hypothèse concernant la loi de probabilité d'une variable aléatoire est compatible avec la réalisation d'un échantillon. Deux cas sont à distinguer :

- La fonction de répartition F est entièrement spécifiée, et ses paramètres sont connus.
- On connaît seulement la forme de la loi de distribution, et ses paramètres sont estimés à partir d'un échantillon.

– Test de Kolmogorov-Smirnov : [16]

Le test de Kolmogorov-Smirnov est un test de normalité, c'est-à-dire un test permettant de vérifier si une distribution de données suit une distribution gaussienne ou s'en rapproche.

Ce test vise à vérifier si les données observées sont compatibles avec un modèle théorique donné.

Principe : [17]

On mesure l'écart maximum qui existe entre la fonction de répartition observée (ou tout simplement des fréquences cumulées) et la fonction de répartition théorique (ou tout autre fonction inconnue sous forme analytique). Sous l'hypothèse H_0 , cet écart est faible et la répartition des observations s'intègre bien dans une distribution donnée. Un calcul manuel nécessite l'utilisation d'une table de Kolmogorov (en dessous d'une trentaine d'observations) : il suffit alors de comparer la distance maximale à la valeur idoine de la table. Cette valeur tabulée prend en compte l'effectif et le seuil alpha.

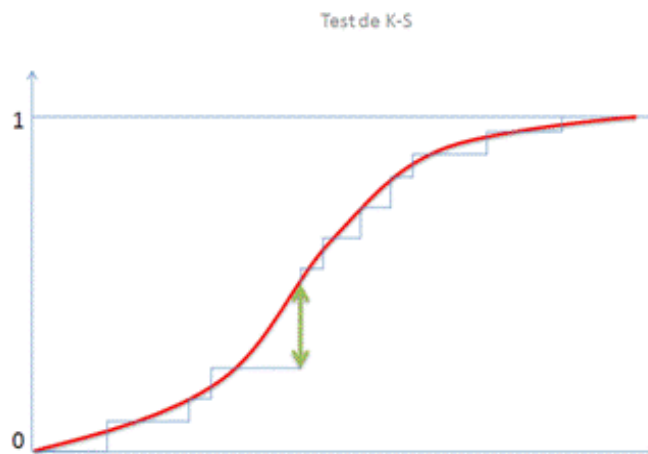


Figure 8 : courbe d'évolution des fréquences cumulées

La flèche mesure l'écart maximum entre les observations (en bleu) et la fonction de répartition connue rouge, c'est cette distance D qui est testée.

– Droite de Henry: [15]

Une autre méthode couramment utilisée en pratique pour visualiser plutôt que tester si la loi d'une variable aléatoire est normale, est la droite de Henry.

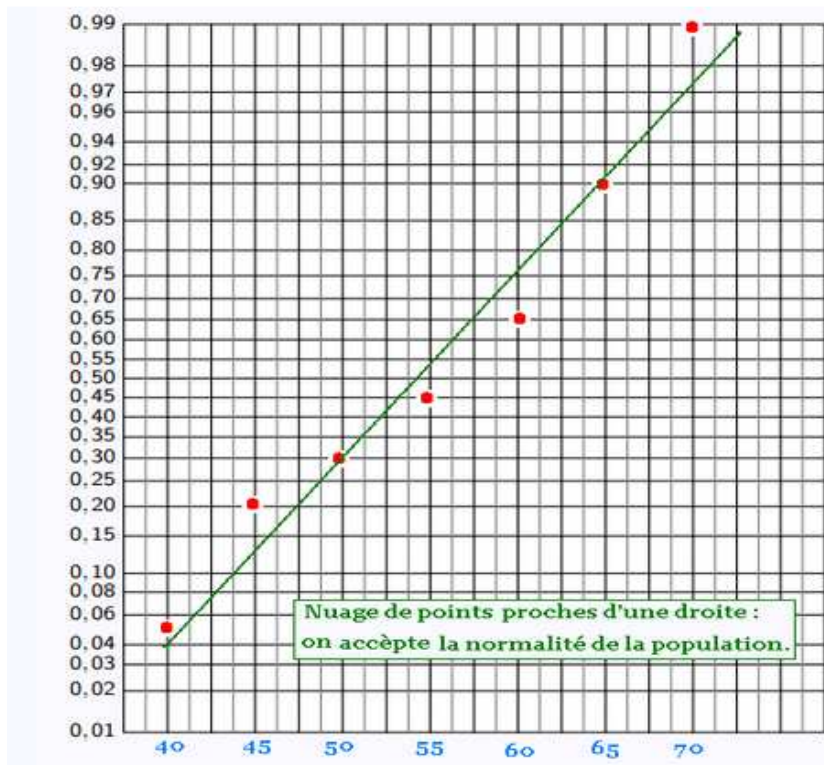


Figure 9 : Courbe de la droite de Henry

Lorsque le nuage de points de la distribution observée représentant les fréquences cumulées en fonction des valeurs des caractères est pratiquement une droite, on accepte la normalité de la distribution observée à tester, autrement, on la rejette.

III-3/Tests non paramétriques: [15]

Basés sur des statistiques de rang, ils sont exploitables quelle que soit les lois des échantillons (free distribution en anglais). Lorsque les hypothèses d'un test paramétrique sont vérifiées, un test non paramétrique est généralement moins puissant que son homologue, il peut conduire plus facilement à accepter à tort l'hypothèse H_0 . Leur usage ne se justifie que lorsque l'hypothèse sur la distribution des échantillons n'est pas vérifiée, et si les échantillons sont de petites tailles.

– Test de Wilcoxon-Mann-Whitney pour deux échantillons indépendants :[15]

Ce test repose sur l'idée que deux séries de valeurs mélangées, et ordonnées en valeurs croissantes, doivent conduire à un mélange homogène si l'hypothèse H_0 d'identité des distributions est vérifiée.

– **Test de Wilcoxon pour échantillons appariés : [15]**

Comme pour des échantillons gaussiens, la variable considérée est celle $X-Y$ des différences. Le test dit des signes consiste à dénombrer le nombre K de différences positives. Sous l'hypothèse d'homogénéité, K suit une loi binomiale.

– **Test de Kruskal-Wallis pour plusieurs échantillons : [15]**

C'est la généralisation à m échantillons de celui de Wilcoxon-Mann-Wallis auquel il est équivalent pour $k=2$.

III-4/Tests non libres de distribution : [16]

Certains tests statistiques ne sont valables que sous certaines conditions, qui proviennent de la distribution des variables.

L'exemple le plus courant est le test de Student, ce test n'est applicable que si les deux variables concernées sont issues d'une distribution normale, et que les deux variances concernées sont homogènes.

– **Test de Student :**

Le test t de Student est un test paramétrique permettant de comparer les moyennes de deux groupes d'échantillons. Il s'agit donc de savoir si les moyennes des deux groupes sont significativement différentes d'un point de vue statistique. [12]

Il existe plusieurs variantes du test t de Student :

- Le test t de Student pour échantillon unique.
- Le test t de Student comparant deux groupes d'échantillons indépendants (on parle de test de Student non apparié).
- Le test t de Student comparant deux groupes d'échantillons dépendants (on parle de test de Student apparié). [13]

Afin d'appliquer ce test, trois conditions doivent impérativement être respectées :

1. Les tailles des échantillons ne doivent pas être très différentes.
2. La distribution des probabilités de chaque échantillon ne doit pas être très différente de la normale, donc ne pas être trop dissymétrique.
3. Les variances des échantillons ne doivent pas être très différentes. [16]

I-Introduction :

L'objectif de notre travail est de comparer entre deux techniques de dosage, l'une est considérée comme étant une méthode de référence, en l'occurrence, la chromatographie liquide à haute performance et l'autre une méthode alternative la spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultra violet.

Afin d'atteindre cet objectif, une série de 27 échantillons est préparée à partir de différents lots de prixam gel 0.5%, chaque échantillon est dosé séparément par les deux techniques sus cités le traitement de données fait appel à des outils statistiques précisément les tests d'hypothèses.

La partie pratique du présent travail a été réalisée en grande partie au laboratoire de contrôle qualité de l'unité DAR EL BEIDA –groupe SAIDAL- certaines manipulations ont été effectuées au laboratoire de chimie analytique département de pharmacie de l'UMMTO.

II-Matériels et méthodes :

II.1.Matériel :

– II.1.1.Produits et réactifs :

- Piroxicam : matière première conforme à la pharmacopée européenne en vigueur.
- Prixam gel 0.5% (différents lots)
- HCl à 37%(sigma Aldrich)
- Méthanol R (Sigma Aldrich)
- Acétonitrile R (Sigma Aldrich)
- Phosphate disodique dihydraté 0.05M.
- Acide orthophosphorique 85%.

– II.1.2.Verrerie et consommable :

- Fioles jaugées (50, 100, 200, 250, 1000ml)
- Eprouvettes (100, 1000 ml)
- Erlen Meyer (250ml)
- Béchers (100, 250ml)
- Pipettes jaugées (1, 5, 10, 20, 25 ml)
- Pro pipettes.
- Entonnoirs.

– II.1.3.Equipements :

- Balance analytique (Sartorius).
- Hotte de type Kotterman.
- Agitateur magnétique.
- pH mètre.
- Centrifugeuse.
- Sonicateur.

- Dispositif de filtration sous vide (filtration de la phase mobile)
- Spectrophotomètre UV Visible Perkin Elmer lambda25.
- Spectrophotomètre Biomat 3. Thermo scientific.
- Chaine HPLC-WATERS (LCQ SAIDAL)
- Chaine HPLC SCHEMADZU LC20 (UMMTO)

– II.1.4.Outils informatiques :

-Excel (Microsoft Excel 2007) :

Le tableur Excel nous a permis de faire les différents calculs élémentaires qui la moyenne, la variance et l'écart type.

-XLSTAT :

C'est le logiciel d'analyse de données et de statistiques pour Microsoft Excel le plus complet et le plus utilisé.

Nous l'avons utilisé pour effectuer les différents tests statistiques (test de Kolmogorov-Smirnov, test de Fisher-Snedecor, et le test de Student).

II.2.Méthodes :

A. Dosage du piroxicam par HPLC dans le produit fini prixam 0.5% :

La méthode est inscrite à la pharmacopée américaine « USP » en vigueur

a. Préparation des solutions :

– Solution d'HCl méthanolique 0.01N

Introduire dans une fiole de 100 ml 0.43 ml d'HCl à 37%, ajouter 4 ml d'eau et compléter au volume avec le méthanol.

Introduire 20 ml de cette solution dans une fiole de 1000 ml et compléter au volume avec du méthanol.

– Solution de phosphate disodique 0.05M :

Introduire 8.8995 g de di Sodium hydrogène-phosphate-2-hydraté dans une fiole de 1000 ml et compléter au volume avec de l'eau, ajuster le pH à 3.5 avec de l'acide orthophosphorique.

– Phase mobile :

Mélange de méthanol / acétonitrile / solution de phosphate disodique 0.05M (150/300/550 v/v), pH 3.5.

– Solution standard :

Préparer une solution à 0.1% m/v de piroxicam dans l'HCl méthanolique 0.01M.

Introduire 5 ml de cette solution dans une fiole de 100 ml et compléter au volume avec la phase mobile.

– Solution à examiner :

Introduire une prise d'essai de prixam gel 0.5% équivalente à 5 mg de piroxicam (1g de produit fini) dans une fiole de 100 ml, ajouter 5 ml d'HCl méthanolique 0.01N.

Agiter doucement pendant 30 min puis ajouter 50 ml de phase mobile et agiter vigoureusement pendant 30 min.

Compléter au volume avec la phase mobile, mélanger et filtrer la solution à travers un filtre en fibre de verre (1µm de porosité).

b. Conditions chromatographiques :

-Colonne :

Dimension : longueur : 25cm, diamètre interne : 4.6mm

Phase stationnaire : gel de silice octylsilylé (C8), diamètre des particules=5µm

-Débit : 1 ml/min (mode isocratique)

-Température de la colonne= 25°C.

-Longueur d'onde de détection $\lambda = 248\text{nm}$.

-Volume injecté = 20 µl.

c. Résultat du dosage: la teneur en piroxicam est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{A_{ech} * P_{e\ std} * p}{A_{std} * P_{e\ ech} * 10} \text{ (g/100g)}$$

Avec:

T : teneur en g de piroxicam par 100 g de piroxicam gel.

A_{ech} : Aire du pic de piroxicam dans le chromatogramme obtenu à partir de la solution échantillon

A_{std} : Aire du pic de piroxicam dans le chromatogramme obtenu à partir de la solution standard.

$P_{e\ std}$: Prise d'essai du standard. (mg)

$P_{e\ ech}$: Prise d'essai de l'échantillon. (g)

p : pureté de la matière première en pourcentage (%).

Normes de conformité : [0.475-0.525] g/100g.

B. Dosage du piroxicam par spectrophotométrie UV dans le produit fini piroxicam 0.5%:

a. Préparation des solutions :

– **Solution d'HCl méthanolique 0.01N :** (comme vu précédemment).

– **Solution standard :**

Peser dans une fiole de 250 ml, 50 mg de piroxicam, dissoudre dans un volume suffisant d'HCl méthanolique à 0.01 N, puis compléter au volume avec le même diluant.

Dans une fiole de 200 ml, prélever 5 ml de cette solution, et compléter au volume avec la solution d'HCl méthanolique 0.01 N.

– **Solution à examiner :**

Introduire une prise d'essai de Piroxicam gel 0.5% équivalente à 10 mg de piroxicam (2 g de produit fini) dans une fiole de 200 ml.

Ajouter environ 100 ml d'HCl méthanolique 0.01 N, agiter mécaniquement pendant 30 minutes, ajuster au volume avec HCl méthanolique 0.01 N, agiter.

Prélever approximativement 40 ml de cette solution, centrifuger pendant environ 10 min, à une vitesse de 4000tr/min. Prélever 5 ml du surnageant et l'introduire dans une fiole de 50 ml, compléter au volume avec l'HCl méthanolique 0.01 N.

b. Conditions spectrophotométriques :

- Longueur d'onde de mesure : $\lambda = 334$ nm.
- Cuve en quartz de 1cm de largeur.
- Blanc : solution HCl méthanolique 0.01N.

c. Résultat du dosage: la teneur en piroxicam est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{Abs\ éch * Pe\ std * p}{Abs\ std * Pe\ éch * 5} (g/100g)$$

Avec :

T : teneur en g de piroxicam par 100 g de piroxicam gel.

Ab_{Séch} : Absorbance du piroxicam obtenue à partir de la solution échantillon.

Ab_{Sstd} : Absorbance du piroxicam obtenue à partir de la solution standard.

P_{std} : Prise d'essai du standard (mg)

P_{éch} : Prise d'essai de l'échantillon (g)

p: pureté de la matière première en pourcentage (%).

Intervalle de conformité : [0.475-0.525] g/100g.

II.3.Outils statistiques :

Pour confirmer que les deux méthodes de dosage (HPLC et UV) sont comparables, différents tests statistiques seront effectués.

II.3.1.Rappels sur les paramètres d'un échantillon :

Des paramètres principaux caractérisent une variable statistique X, et sont :

- paramètre de position : la moyenne

$$\bar{X} = 1/N \sum_{i=1}^k n_i \cdot X_i$$

n_i le nombre de répétition de la mesure

X_i la valeur trouvée

N l'effectif de la population

- paramètres de dispersion : variance et écart type.

$$\sigma^2 = 1/N-1 \sum_{i=1}^k n_i \cdot (X_i - \bar{X})^2$$

-Coefficient de variation CV :

Se calcule par le rapport entre l'écart-type et la moyenne.

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

CV doit être inférieur ou égal à 2%.

-Indice de similarité :

$$F = A_1 \cdot m_2 / A_2 \cdot m_1$$

Avec :

A_1 : l'absorbance moyenne du standard 1.

A_2 : l'absorbance moyenne du standard 2.

m_1 : masse du standard 1.

m_2 : masse du standard 2.

Le facteur de similarité doit être proche de 1.

NB : les absorbances des standards peuvent être remplacées par les Aires de pics, afin de calculer le facteur de similarité pour l'HPLC.

II.3.2.Etude de la normalité :

Pour vérifier si la distribution des résultats des dosages suit une loi normale, nous utiliserons le test de Kolmogorov-Smirnov, cette étape est assurée à l'aide d'un logiciel statistique XLSTAT.

Démarches suivies :

- Formulation des hypothèses H_0 et H_1 sur la normalité des distributions.

- Tri en ordre croissant des résultats obtenus.
- Calcul des fréquences cumulés $F_n(x)$, et $F(x)$ théorique.
- Mesure de l'écart (D) le plus élevé entre les deux fonctions $F_n(x)$ et $F_{th}(x)$.
- Comparer le D mesuré (observé) au D_a théorique.

II.3.3. Etude de l'homogénéité des variances :

A l'aide du test de Fisher-Snedecor, nous vérifierons l'homogénéité des variances des deux séries obtenues chacune à partir d'une méthode de dosage.

- On formule les hypothèses H_0 et H_1 sur l'homogénéité des variances.
- On calcule le F_{ech} qui est égal au rapport entre la variance la plus élevée et la variance la moins élevée.

$$F_{ech} = \sigma_2^2 / \sigma_1^2$$

σ_2^2 : représente la variance la plus élevée.

σ_1^2 : représente la variance la moins élevée.

Après avoir fait ce calcul, nous allons comparer F_{ech} à F° depuis la table de Fisher ; tel que :

$$F^\circ [\alpha ; ddl1 ; ddl2]$$

α : 0.05 (risque d'erreur).

ddl1 : degré de liberté de la variance du numérateur (ddl1 = n1 - 1).

ddl2 : degré de liberté de la variance du dénominateur (ddl2 = n2 - 1).

- Si $F_{ech} < F^\circ$: les deux variances sont comparables.

II.3.4. Etude de la comparaison des moyennes :

Nous sommes dans le cas de comparaison de moyennes obtenues à partir des échantillons appariés.

La démarche consiste à

- Formuler les hypothèses H_0 et H_1 sur la moyenne des différences observées au niveau de chaque mesure.
- Calculer la différence des résultats obtenus pour chaque mesure, sur l'ensemble des différences.
- Calculer la moyenne, l'écart type des différences.
- Définir l'intervalle de confiance IC pour la moyenne théorique;

$$IC = [\bar{X} - t^\circ \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}} ; \bar{X} + t^\circ \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}]$$

- Utiliser le test de Student pour comparer la moyenne des différences avec la valeur théorique 0.

Test de STUDENT :

$$tech = \frac{|md - 0|}{6m} = \frac{|mech|}{\frac{6ech}{\sqrt{n-1}}}$$

Avec :

t_{ech} : t de student pour l'échantillon.

md : moyenne des différences observées.

σ_{ech} : écart type des différences observées.

n : nbre d'analyses effectuées.

A partir de la table de Student, on lit la valeur seuil t° pour un risque α et un degré de liberté $n-1$, soit **$t^\circ (\alpha ; n-1)$** .

Si $|t_{ech}| < t^\circ$, la moyenne des différences est comparable avec 0 et les deux séries objet d'étude sont comparables. C'est à dire on conclut la comparabilité des deux méthodes analytiques.

Chapitre IV : MATRIEL, METHODES, RESULTATS ET DISCUSSIONS

III-Résultats et Discussions :

Les données brutes obtenues pour chacune des deux techniques (Aires du pic du piroxicam et les absorbances mesurées sont présentées dans l'annexe).

Les éléments du calcul des résultats des dosages du piroxicam dans le produit fini pxirom gel 0.5% par les deux méthodes HPLC et spectrophotométrie UV figurent dans le tableau ci-dessous.

Tableau III : Eléments du calcul des résultats des dosages

N° du lot	Dosage par HPLC				Dosage par spectrophotométrie UV			
	Pe _{ech} (g)	A _{ech}	Pe _{std} (mg)	A _{std}	P _{ech} (g)	Abs _{ech}	Pe _{std} (mg)	Abs _{std}
201	1,0258	2076438	50,2	2129647	2,0232	0,383	50,5	0,3687
202	1,0859	2253810.5	50,2	2129823	1,988	0,3734	50.5	0,3689
208	0,9889	2136520.5	50,2	2125377	2,0259	0,3724	50.5	0,3689
213	0,9889	1920638.2	50,13	1853235	2,0342	0,3832	50.5	0,3696
214	1,0698	2090116	50,13	2018644	1,9837	0,3703	50.5	0,3687
216	1,0839	1877801.7	50,1	1796364	2,0095	0,3676	50.5	0,3687
217	0,9936	2196646.1	50,1	2187746	1,9737	0,3567	50.5	0,3635
220	1,0178	1970279.4	50,02	1860889	2,0092	0,3573	50.5	0,3735
222	1,0926	1857184.1	50,02	1706464	2,0041	0,3847	50.5	0,375
223	1,0093	2017590.6	50,16	1927001	2,0415	0,3934	50.5	0,3796
225	1,0859	2060831	50,16	1962024	2,0446	0,3727	50.5	0,3863
226	1,0058	1901038	50,16	1821999	2,097	0,41005	50.5	0,3798
228	0,9951	2012356.9	50,2	1950983	1,9793	0,3602	50.5	0,3774
229	1,001	1948956.6	50,2	1938248	2,0487	0,3877	50.5	0,3717
230	1,0385	2019985.6	50,2	1869319	2,0321	0,3783	50.5	0,3713
231	1,0267	1986991.4	50,2	2010723	2,0225	0,3843	50.5	0,3774
232	1,0333	2039784.5	50,02	1912404	2,0681	0,349	50.5	0,3514
233	0,9991	1871558	50,02	1955514	2,0203	0,342	50.5	0,356
234	1,0098	2086414.5	50,02	1997758	2,0133	0,3592	50.5	0,3707
235	1,0156	1885651.5	50,11	1917597	2,0373	0,3534	50.5	0,356
236	1,0302	2055205	50,11	1902819	2,023	0,3782	50.5	0,3687
237	1,0522	1963648.5	50,11	1828998	2,0018	0,3495	50,5	0,356
238	1,0449	1857189.5	50,11	1839501	2,0007	0,3539	50.5	0,356
166	1,0153	2221393	49,4	2138861	2,0445	0,445	50,4	0,431
166"	1,0552	2322883	49,4	2138861	1,934	0,437	50.4	0,431
221	1,0759	2415863	49,4	2138861	2,064	0,451	50.4	0,431
224	1,0716	2403485	49,4	2138861	2,0226	0,449	50.4	0,431

III-1.Traitement statistique des résultats de dosage :

Tableau IV : Résultats des teneurs obtenues après calculs.

N° du lot	Teneur par HPLC %	Teneur par UV %	d=T(HPLC)-T(UV)
201	0,475	0,476	-0.001
202	0,487	0,504	-0,017
208	0,508	0,502	0,006
213	0,523	0,516	0,007
214	0.483	0,499	-0,016
216	0.481	0,496	-0,015
217	0.504	0,507	-0,003
220	0.518	0,476	0,042
222	0.496	0,511	-0,015
223	0.518	0,515	0,003
225	0.483	0,48	0,003
226	0.518	0,516	0,002
228	0.518	0,494	0,024
229	0,502	0,519	-0,017
230	0.52	0,507	0,013
231	0.481	0,507	-0,026
232	0.514	0,475	0,039
233	0.477	0,478	-0.001
234	0.515	0,482	0,033
235	0.483	0,494	-0.011
236	0.523	0,511	0,012
237	0.509	0,489	0,02
238	0.482	0,495	-0,013
166	0,506	0,513	-0,007
166''	0,508	0,524	-0,016
221	0,517	0,5	0,017
224	0,515	0,518	-0,003
moyenne	0,502	0,500	0,002
Variance	2,713E-04	2,229E-04	3,269E-04
écart type	0,016	0,015	0.018

Chapitre IV : MATRIEL, METHODES, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Remarque :

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, l'ensemble des lots analysés par les deux techniques sont conformes par rapport au paramètre dosage.

III-1.1 : Calcul des coefficients de variation des standards :

Tableau V : Coefficient de variation des standards pour l'HPLC :

Aires de pic	A1	A2	A3	A4	\bar{X}	σ	CV1
Std1 m=50.2mg	2129647	2129823	2125377	/	2128282,33	1780,23388	0,0836
Std2 m=50.11mg	1917597	1902819	1828998	1839501	1872228,75	34450,094	1,8401

Tableau VI : Coefficient de variation des standards pour l'UV

Abs std	A1	A2	A3	A4	\bar{X}	σ	CV2
Std1 m=50.5 mg	0.3687	0.3689	0.3689	0.3696	0.3690	0.00031	0.0829
Std2 m=50.4	0.431	0.431	0.431	0.431	0.431	0	0

Discussion :

Les CV1 et CV2 sont inférieurs à 2% cela signifie que notre système est conforme.

III-1.2 : Facteur de similarité :

Tableau VII : Calcul du facteur de similarité

HPLC	Aire du pic	F	UV	Absorbance	F
STD1 m=50.02mg	1912404	1.001	STD1 m=50.5mg	0.3514	0.987
STD2 m=50.11mg	1917597		STD2 m=50.5mg	0.356	

Discussion :

F étant proche de 1 pour les deux méthodes, cela veut dire qu'on a travaillé dans de bonnes conditions.

III-2.Vérification de la normalité des résultats de dosage :

- Test de Kolmogorov – Smirnov :

Tableau VIII : Statistiques descriptives des deux échantillons

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Teneur HPLC %	27	0,475	0,523	0,502	0,016
Teneur UV %	27	0,475	0,524	0,500	0,015

Test de Kolmogorov-Smirnov (Teneur HPLC %) :

Tableau IX : Résultats du test de Kolmogorov-Smirnov pour les teneurs obtenues par HPLC.

D	0,176
Dα	0.254
p-value	0,330
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : L'échantillon suit une loi Normale

Ha : L'échantillon ne suit pas une loi Normale

$D < D\alpha$;

La p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 33%.

Statistiques descriptives pour les intervalles (Teneur HPLC %) :

Borne inférieur= $\text{Min}(xi) - [(\text{Max}(xi) - \text{Min}(xi))/N]$

Borne supérieur= $\text{Max}(xi) + [(\text{Max}(xi) - \text{Min}(xi))/N]$

Etendue totale= valeur max-valeur min= $0.524 - 0.47 \approx 0.054$

Nombre de classes N = 10

Etendue de la classe = $0.054/10 = 0.0054$

Tableau X : Présentation des résultats de dosage par HPLC sous forme de classes.

Classe	Borne inférieure	Borne supérieure	Effectif	Fréquence	Moyenne des bornes	Densité (Données)	Densité (Distribution)
1	0,47	0,4754	1	0,037	0.4727	6.859	0,026
2	0,4754	0,4808	1	0,037	0.4781	6.859	0,044
3	0,4808	0,4862	6	0,222	0.4835	41.152	0,068
4	0,4862	0,4916	1	0,037	0.4889	6.859	0,093
5	0,4916	0,497	1	0,037	0.4943	6.859	0,116
6	0,497	0,5024	1	0,037	0.4997	6.859	0,129
7	0,5024	0,5078	2	0,074	0.5051	13.717	0,128
8	0,5078	0,5132	3	0,111	0.5105	20,576	0,115
9	0,5132	0,5186	8	0,296	0.5159	54.870	0,093
10	0,5186	0,524	3	0,111	0.5213	20.576	0,068

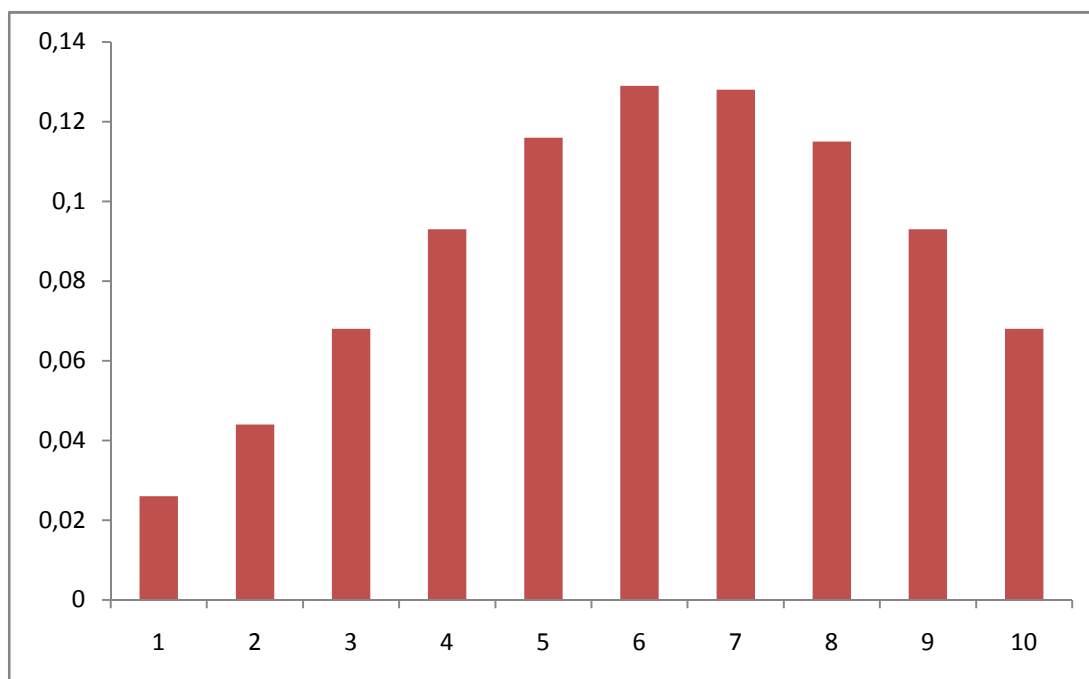


Figure 10 : Histogrammes de répartition des densités pour chaque classe de l'HPLC.

Chapitre IV : MATRIEL, METHODES, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Il est à constater que l'aspect de la courbe de distribution des densités de classe est similaire à la courbe en cloche (courbe de gauss)

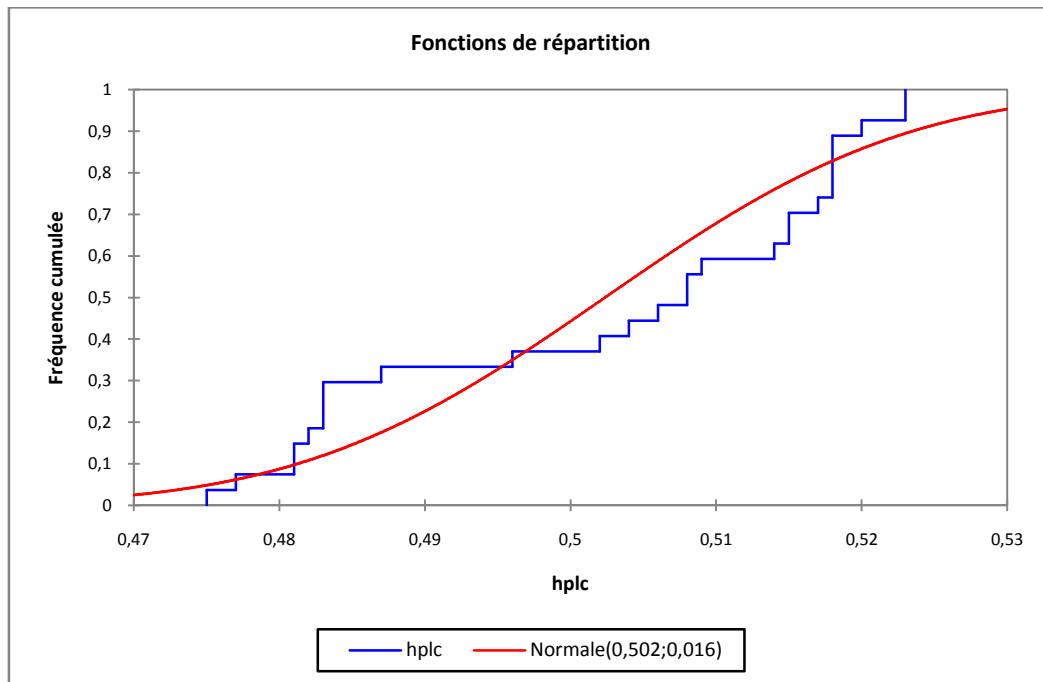


Figure 11 : courbe d'évolution des fréquences cumulées en fonction du dosage obtenu par HPLC.

Test de Kolmogorov-Smirnov (Teneur UV %) :

Tableau XI : Résultats du test de Kolmogorov-Smirnov pour les teneurs obtenues par UV

D	0,121
Dα	0.254
p-value	0,778
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : l'échantillon suit une loi normale.

H1 : l'échantillon ne suit pas une loi normale.

$D < D\alpha$,

En outre ;

La p-value calculée est supérieur au niveau de signification $\alpha=0.05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 78.78%.

Chapitre IV : MATRIEL, METHODES, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Statistiques descriptives pour les intervalles (Teneur UV %) :

Borne inférieure= $\text{Min}(x_i) - [(\text{Max}(x_i) - \text{Min}(x_i))/N]$

Borne supérieure= $\text{Max}(x_i) + [(\text{Max}(x_i) - \text{Min}(x_i))/N]$

Etendue totale= valeur max-valeur min= $0.525 - 0.47 \approx 0.055$

Nombre de classes = 10

Etendue de la classe = $0.055/10 = 0.0055$

Tableau XII : Présentation des résultats de dosage par UV sous forme de classes.

Classe	Borne inférieure	Borne supérieure	Effectif	Fréquence	Moyenne des bornes	Densité (Données)	Densité (Distribution)
1	0,47	0,4755	1	0,037	0.47275	6,734	0,028
2	0,4755	0,481	4	0,148	0.47825	26,936	0,050
3	0,481	0,4865	1	0,037	0.48375	6,734	0,080
4	0,4865	0,492	1	0,037	0.48925	6,734	0,112
5	0,492	0,4975	4	0,148	0.49475	26,936	0,137
6	0,4975	0,503	3	0,111	0.50025	20,202	0,146
7	0,503	0,5085	4	0,148	0.50575	26,936	0,136
8	0,5085	0,514	3	0,111	0.51125	20,202	0,111
9	0,514	0,5195	5	0,185	0.51675	33,670	0,079
10	0,5195	0,525	1	0,037	0.52225	6,734	0,049

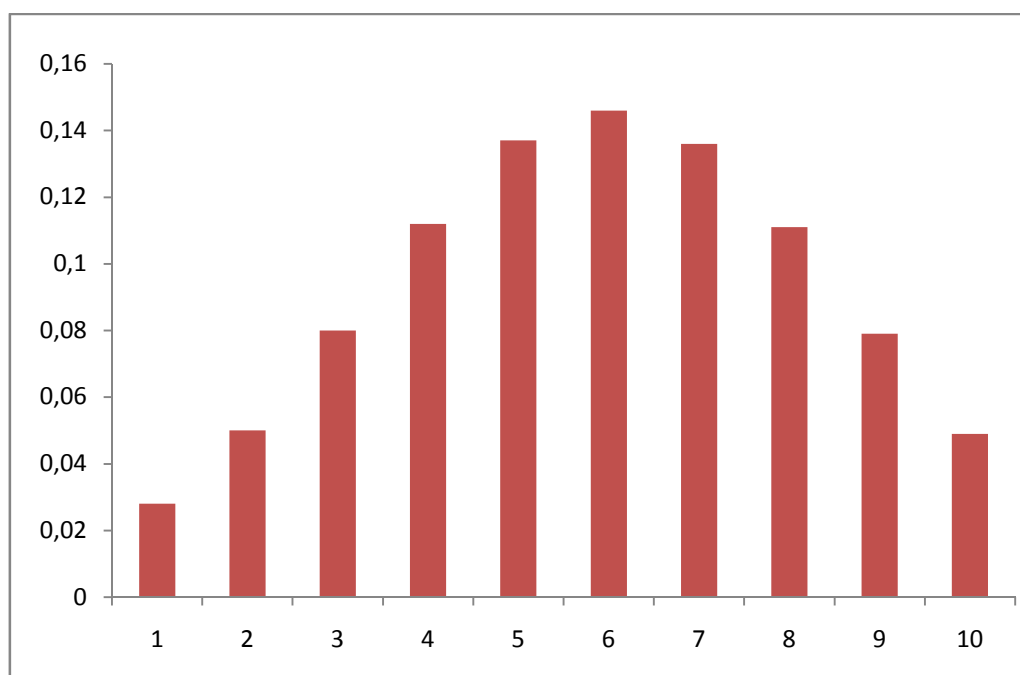


Figure12 : Histogramme de répartition des densités pour chaque classe de l'UV.

Il est à constater que l'aspect de la courbe de distribution des densités de classe est similaire à la courbe en cloche (courbe de gauss)

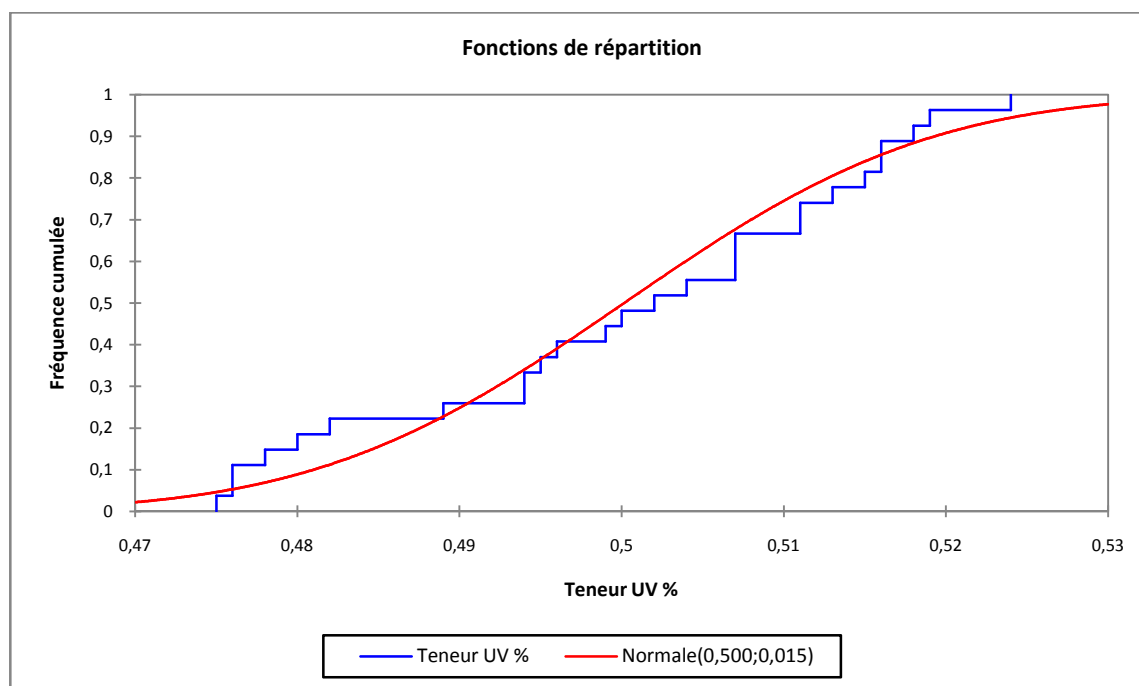


Figure 13 : courbe d'évolution des fréquences cumulées en fonction du dosage obtenu par UV.

Test de Kolmogorov-Smirnov [différence « T(HPLC)-T(UV) »] :

Tableau XIII : Résultats du test de Kolmogorov-Smirnov pour les différences.

D	0.112
Dα	0.254
p-value	0.847
alpha	0.05

Interprétation du test :

H0 : l'échantillon (la différence) suit une loi normale.

H1 : l'échantillon (la différence) ne suit pas une loi normale.

$D < D\alpha$;

La p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0.05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 84.69%.

Chapitre IV : MATRIEL, METHODES, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Statistiques descriptives pour les intervalles (différences=T(HPLC)-T(UV)) :

Borne inférieure= $\text{Min}(x_i) - [(\text{Max}(x_i) - \text{Min}(x_i))/N]$

Borne supérieure= $\text{Max}(x_i) + [(\text{Max}(x_i) - \text{Min}(x_i))/N]$

Etendue totale= valeur max-valeur min= $0.043 - (-0.03) \approx 0.073$

Nombre de classes = 10

Etendue de la classe = $0.073/10 = 0.0073$

Tableau XIV : Présentation des résultats des différences sous forme de classes.

Classe	Borne inférieure	Borne supérieure	Effectif	Fréquence	Moyenne des bornes	Densité (Données)	Densité (Distribution)
1	-0,03	-0,0227	1	0,037	-0.02635	5,074	0,047
2	-0,0227	-0,0154	4	0,148	-0.01905	20,294	0,081
3	-0,0154	-0,0081	4	0,148	-0.01175	20,294	0,119
4	-0,0081	-0,0008	5	0,185	-0.00445	25,368	0,150
5	-0,0008	0,0065	4	0,148	0.00285	20,294	0,160
6	0,0065	0,0138	3	0,111	0.01015	15,221	0,146
7	0,0138	0,0211	2	0,074	0.01745	10,147	0,113
8	0,0211	0,0284	1	0,037	0.02475	5,074	0,074
9	0,0284	0,0357	1	0,037	0.03205	5,074	0,042
10	0,0357	0,043	2	0,074	0.03935	10,147	0,020

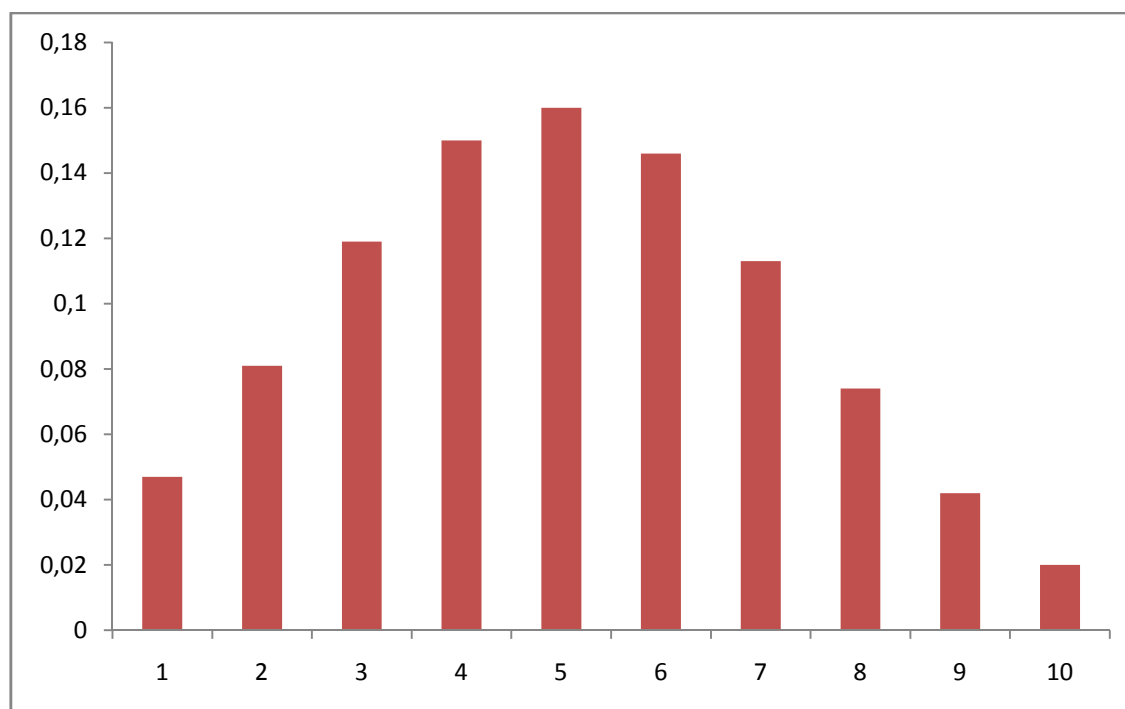


Figure 14 : Histogramme de répartition des densités pour chaque classe des différences.

Il est à constater que l'aspect de la courbe de distribution des densités de classe est similaire à la courbe en cloche (courbe de gauss).

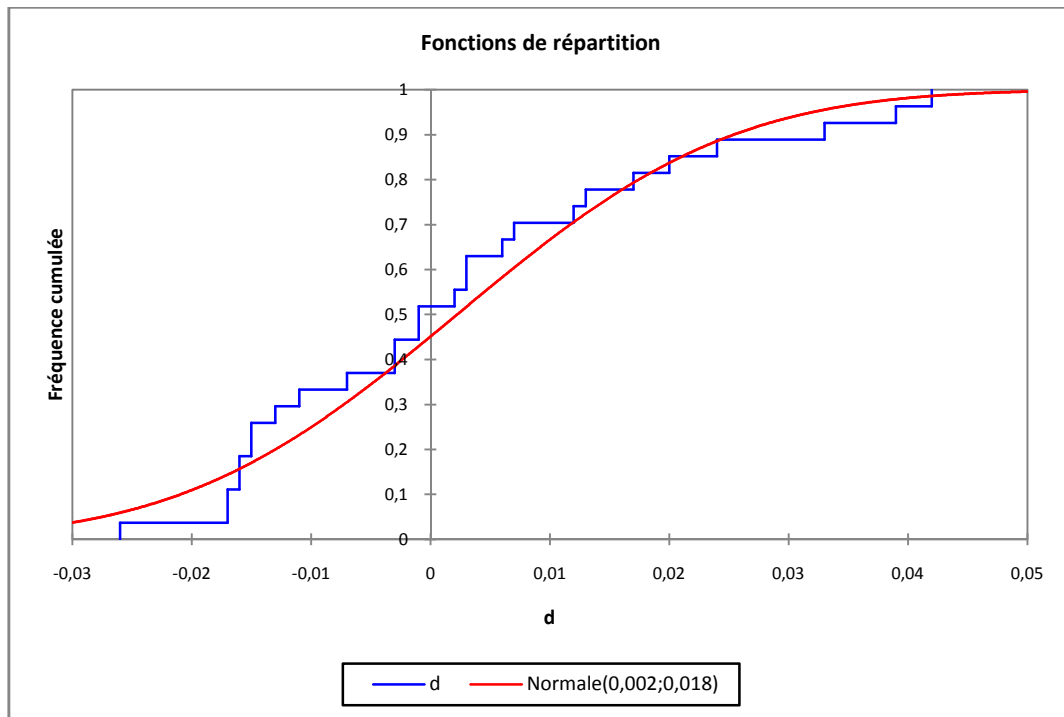


Figure 15 : courbe d'évolution des fréquences cumulées en fonction des différences des deux dosages.

Discussion :

A l'aide des outils statistiques utilisé nous concluons que la distribution des résultats obtenus par les deux méthodes suit une loi normale.

III-3. Test de Fisher-Snedecor (homogénéité des variances) :

Test F de Fisher / Test bilatéral :

Tableau XV : Résultat du test de Fisher pour les deux échantillons.

F (Valeur observée)	1,217
F (Valeur critique)	2,194
DDL1	26
DDL2	26
p-value (bilatérale)	0,620
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : Le rapport entre les variances est comparable à 1.

Ha : Le rapport entre les variances n'est pas comparable avec 1.

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0.05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Discussion :

$F_{ech} < F^o$ les variances des deux séries sont homogènes.

En outre ;

p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0.05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 61.99%.

III-4. Test de Student : (échantillons appariés)

Test t pour deux échantillons appariés / Test bilatéral :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des moyennes :
[-0.005 ; 0.009]

On constate que la moyenne théorique (0.00) est comprise dans l'intervalle de confiance, donc il est possible que la moyenne des différences des résultats (moyenne calculée) soit égale à 0 (moyenne théorique).

Tableau XVI : Résultats du test de Student pour les deux échantillons appariés.

Différence	0,002
t (Valeur observée)	0,639
t° (Valeur critique)	2,056
DDL	26
p-value (bilatérale)	0,529
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.

H1 : La différence entre les moyennes est différente de 0.

Discussion :

$t_{\text{cal}} < t^{\circ}$: la moyenne des différence est comparable avec 0, autrement dit les deux moyennes des résultats obtenus par les deux méthodes analytiques sont comparables.

En outre ;

p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0.05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 52.87%.

Nous concluons à partir de ces résultats que les deux méthodes analytiques sont comparables.

IV-Conclusion :

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à la comparaison de deux techniques analytiques à savoir, l'HPLC et la spectrophotométrie UV appliquées au dosage du piroxicam dans le produit fini pxi-gel 0.5%.

Deux séries statistiques composées chacune de 27 résultats obtenus par analyse des échantillons individuels de différents lots du produit fini, la démarche statistique suivie a fait appel aux tests d'hypothèses et consistait à :

- Vérification de la normalité de distributions des résultats : l'aspect des histogrammes des distributions des densités, le calcul des paramètres D ont montré qu'effectivement la variable étudiée (teneur en % du piroxicam) suit une loi normale.
- Test d'homogénéité des variances, l'application de la loi de Fisher a montré que les variances des résultats obtenus pour chacune des deux méthodes sont comparables.
- Etant donné que les résultats des deux méthodes sont obtenus à partir des mêmes échantillons, les deux séries statistiques sont qualifiées « échantillons appariés » et en vue de démontrer la comparabilité des deux méthodes nous avons dans un premier temps calculé la différence des résultats pour chaque mesure sur l'ensemble des résultats nous avons estimé la moyenne des différences qui est égale à 0.002 avec un intervalle de confiance qui s'étend de -0.005 jusqu'à 0.009 contenant la valeur cible 0, dans un second temps pas significativement différente de 0.

Compte tenu des résultats obtenus à l'aide de ces outils statistiques nous concluons que les deux méthodes analytiques objet d'étude sont comparables.

En industrie pharmaceutique la chromatographie liquide à haute performance représente une méthode de première intention et de référence, tandis que la spectrophotométrie UV est considérée comme étant une méthode alternative. Cette étude a démontré que ces deux méthodes sont effectivement comparables et ce dans le cas du dosage du piroxicam dans le produit fini pxi-gel 0.5%, la méthode UV peut être utilisée en cas de besoin en toute confiance.

CONCLUSION GENERALE

La méthode préconisée par la pharmacopée américaine (USP) pour le dosage du piroxicam est la chromatographie liquide haute performance. Cette méthode dite de référence est réputée pour sa fiabilité, sa précision, sa reproductibilité et sa sensibilité en comparaison à d'autres techniques de dosage.

Cependant, elle présente certaines limites peu négligeables telles que par exemple le coût de son acquisition et de son entretien ou encore la quantité de réactifs qu'elle requiert.

Or, dans toute industrie pharmaceutique, il est question d'avoir un bon rendement en un temps relativement court et en réduisant les charges.

Pour cela, il est intéressant pour les laboratoires de trouver une méthode alternative présentant un rendement comparable en un temps réduit tout en diminuant les coûts. La spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'Ultra-Violet pourrait parfaitement jouer ce rôle. En effet, elle constitue une technique de dosage relativement fiable. De plus, étant donné la structure du piroxicam et vue les groupements chromophores qu'elle contient, son application est possible.

Nous avons dosé le piroxicam dans le produit fini gel piroxicam 0.5% par la chromatographie liquide haute performance suivant un protocole expérimental décrit dans la pharmacopée américaine. Puis, par comparaison, nous avons réalisé le dosage de ces mêmes échantillons par la spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultra-violet. A l'aide des outils statistiques, notamment les tests d'hypothèses, nous avons confronté les teneurs obtenues. En vue des résultats, nous sommes arrivés à la conclusion que les deux techniques sont comparables, et que de ce fait, la spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultra-violet constitue une méthode alternative à la chromatographie liquide haute performance pour le dosage du piroxicam dans le gel piroxicam 0.5%.

Références bibliographiques :

- [1] **Jacques DANGOUMAU**. Pharmacologie générale, université Victor SEGALEN, Bordeaux 2, 2006, p 300.
- [2] **Françoise GOIRAND, Marc BARDOU**. Pharmacologie et thérapeutique. ELSEVIER MASSON, 2011.
- [3] **Waseeq Ahmad SIDDIQUI**. Synthesis of Piroxicam-related Heterocyclic Molecules and Evaluation of Their Biological Activities, 2007, pp 2-9.
- [4] **pharmacopée européenne 6^{ème} édition**.
- [5] **Sonia, Marie, Maryse CLEMENT-GUERCIA**. Les intoxications des animaux de compagnie par les médicaments à usage humain, 2003, pp 73.
- [6] **Figaro.fr/santé**.
- [7] **Olivier ALLO, Pascale BLANC, Marie Ange DALMASSO**. Pharmacie galénique BP. Porphyre, 2013.
- [8] **Amandine GEORGEL**. Pénétration transcutanée des substances actives. Application en dermocosmétologie, 2008, pp 59.
- [9] **D.MOUCHIROUD**. Test d'hypothèse, outils pour la biologie-DEUG SV- UCBL, 2003.
- [10] **Jean-Jacques RUCH**. Statistique : test d'hypothèses préparation à l'agrégation, Bordeaux 1, 2012.
- [11] **Jonathan LENOIR**. Introduction aux tests d'hypothèse, Université de Picardie.
- [12] **Thérèse PHAN, Jean-Pierre ROWENCZYK**. Exercices et problèmes de statistiques et probabilités. Dunod, 2012, pp 179
- [13] **François DRESS**. Probabilités et statistiques de A à Z. Dunod, p22
- [14] **Henri IMMEDIATO**. Cours de statistique. Chapitre 3, Tests statistiques, pp 23.
- [15] **<http://www.math.univ-toulouse.fr/~besse/Wikistat/pdf/st-l-inf-tests>**
- [16] **http://scientificsentence.net/Equations/Maths2/statistiques/index.php?key=yes&Integer=kolmogorov_smirnov**
- [17] **<http://www.jybaudot.fr/Inferentielle/kolmogorov.html>**
- [18] **Yuri KAZAKEVICH, Rosario LOBRUTTO**. HPLC for pharmaceutical scientists. WILEY-INTERSCIENCE, 2007.
- [19] **Véronique JACOB**. La Chromatographie Liquide Haute Performance(HPLC), 2010.
- [20] **Fundamentals of liquid chromatography (HPLC)**. Agilent Technologies.

[21] **M.MAMOU, A.AMZIANE.** Analyse qualitative et quantitative en chromatographie, UMMTO.

[22] **Francis ROUESSAC, Annick ROUESSAC.** Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes, 6^{ème} édition, DUNOD.

[23] **H.ELIAS.** Cours spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'UV-Visible, UMMTO. 2011.

[24] **M.MAMOU, A.AMZIANE.** Cours spectrophotométrie UV-Visible et ses applications. UMMTO.

[25] **Y. TROUGOUTY, H.NOUA.** Les techniques de mesures de l'infiniment petit au service de la caractérisation physique des nanoparticules, 2014-2015, p 34-35.

[26] **P. NOBELIS.** Université de Strasbourg, <http://nobelis.eu/photis/Lois/normale.html>

Hormone : l'hormone est une substance à action physiologique spécifique sécrétée par une glande endocrine, et qui après avoir été véhiculée par le sang, va exercer un effet déterminé en d'autres points du corps, sur un organe cible.

Hormones corticosurrénales : sont sécrétées par la glande surrénale (située au dessus du rein) ; ce sont les hormones minéralotropes, les glucocorticoïdes, et les androgènes, leur sécrétion est sous la dépendance de l'hypothalamus et de l'hypophyse (glandes du cerveau).

Glucocorticoïdes : c'est essentiellement le cortisol, il agit sur le métabolisme des glucides et des protéides : il favorise la fabrication par l'organisme de glucides, c'est la néo-glycogénèse, agissent également sur le métabolisme des lipides : elles inhibent la lipogénèse.

Phospholipase A2 : Les phospholipases A2 (PLA2) sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse de phospholipides en position sn-2 afin de libérer un acide gras et un lysophospholipide, est impliquée dans de très nombreux processus biologiques tels que l'immunité, la reproduction, l'inflammation et le cancer.

Acide arachidonique : c'est un acide gras polyinsaturé oméga-6 à 20 atomes de carbone, constituant les membranes cellulaires de l'organisme. Il est abondant dans le cerveau, les muscles et le foie, est un intermédiaire clé intervenant dans l'inflammation.

Cyclo-oxygénase (Cox) : La cyclo-oxygénase est une enzyme présente dans toutes les cellules de l'organisme excepté les hématies matures. Elle transforme l'acide arachidonique en prostaglandine.

Il existe deux isoformes de cyclo-oxygénase ; Cox1 et Cox2.

Cox1 : dite constitutive ; elle est présente d'emblée dans toutes les cellules et synthétise les prostaglandines « physiologiques » intervenant dans la régulation des fonctions de l'organisme (régulation du flux sanguin rénal, sécrétion du mucus gastrique...). Son inhibition est la source des effets indésirables des AINS, elle est immédiate.

Cox2 : est dite induite ou inductible. Elle est peu exprimée dans les conditions normales ; elle est activée par les cytokines et les facteurs mitogènes lors de dommages ou d'inflammation des tissus et elle conduit à la production de prostaglandines dont PGE2.

Glossaire

Son inhibition est responsable des effets pharmacodynamiques des AINS, elle augmente avec la durée de l'administration.

Prostaglandine : Les prostaglandines appartiennent à la classe des acides gras insaturés, elles interviennent dans le cadre de la circulation sanguine, des sécrétions gastriques ou encore de la contraction de l'utérus.

Film hydrolipidique : le film hydrolipidique est déposé à la surface du *Stratum corneum*, c'est une émulsion eau/huile. L'eau est représentée par les sécrétions sudorales et les acides gras proviennent de la sécrétion sébacée (96% des lipides), de la sueur.

Stratum corneum : également appelé couche cornée, qui est une région de l'épiderme, est constitué uniquement de cornéocytes qui représentent le stade ultime de différenciation des kératinocytes.

C'est le stratum corneum qui est responsable de la perméabilité de la peau.

Le derme : c'est un tissu conjonctif fibreux qui confère à la peau élasticité et tonicité. Il est le site d'implantation des annexes cutanées ainsi que des réseaux vasculaire, nerveux et lymphatique.

Cône de MAHLER : aussi appelé pénétromètre, permet de contrôler la dureté des formes semi-solides ; le cône de poids et de taille déterminé s'enfonce dans la préparation, la dureté est alors déduite en mesurant la profondeur de l'empreinte au bout de trois minutes.

Population : est un ensemble fini d'objets (individus ou unités statistiques) sur lesquels une étude se porte et dont les éléments répondent à une ou plusieurs caractéristiques communes.

Echantillon : ensemble d'individus représentatifs de la population étudiée, l'objectif est d'obtenir une meilleure connaissance de la population par l'étude du seul échantillon.

Hypothèse : est un énoncé qui porte sur la population et dont on ne sait pas si elle est vraie ou fausse.

Variable aléatoire : c'est une grandeur ou une modalité dont la valeur varie en fonction du résultat d'une épreuve en probabilités.

Moyenne : dans une situation d'observation d'un échantillon statistique, la moyenne est le principal indicateur numérique de tendance centrale.

Variance : c'est le principal indicateur numérique de dispersion, parfois qualifié de variance observée ou de variance empirique, elle est définie comme la moyenne numérique des carrés des écarts entre les valeurs observées et leur moyenne.

Groupement auxochrome : entité qui permet de modifier les propriétés d'absorption du groupement chromophore. Cette modification peut être induite par les effets inductifs ou mésomères du groupement fixé que le chromophore.

Annexe 1 : HPLC

I-Qu'est ce que l'HPLC ? [18]

L'HPLC ou la Chromatographie Liquide Haute Performance, est une technique chromatographique de séparation et d'identification très générale d'emploi, elle dérive de la forme la plus ancienne de la chromatographie liquide (CPL) sur colonne dont les performances, en termes de sélectivité et de résolution, se sont trouvées grandement améliorées par la miniaturisation et l'utilisation de phases stationnaires très élaborées.

II-Principe :[18]

Un fluide appelé phase mobile parcourt la colonne qui représente la phase stationnaire pouvant contenir des granulés poreux.

A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté, dilué et entraîné tout au long de la colonne par la phase mobile.

Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange, solutés, sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne.

De ce phénomène appelé rétention il en résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés.

Un détecteur à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. D'abord il dirige sur l'enregistreur un signal constant, appelé ligne de base, détecté en présence du fluide porteur seul. Puis, au passage de chaque soluté, un pic est enregistré.

Dans des conditions chromatographiques données, le temps de rétention, défini comme étant le temps au bout duquel un composé, élué de la colonne, est détecté, caractérise qualitativement une substance, l'amplitude des pics, ou encore l'aire limitée par les pics et la prolongation de la ligne de base qui permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

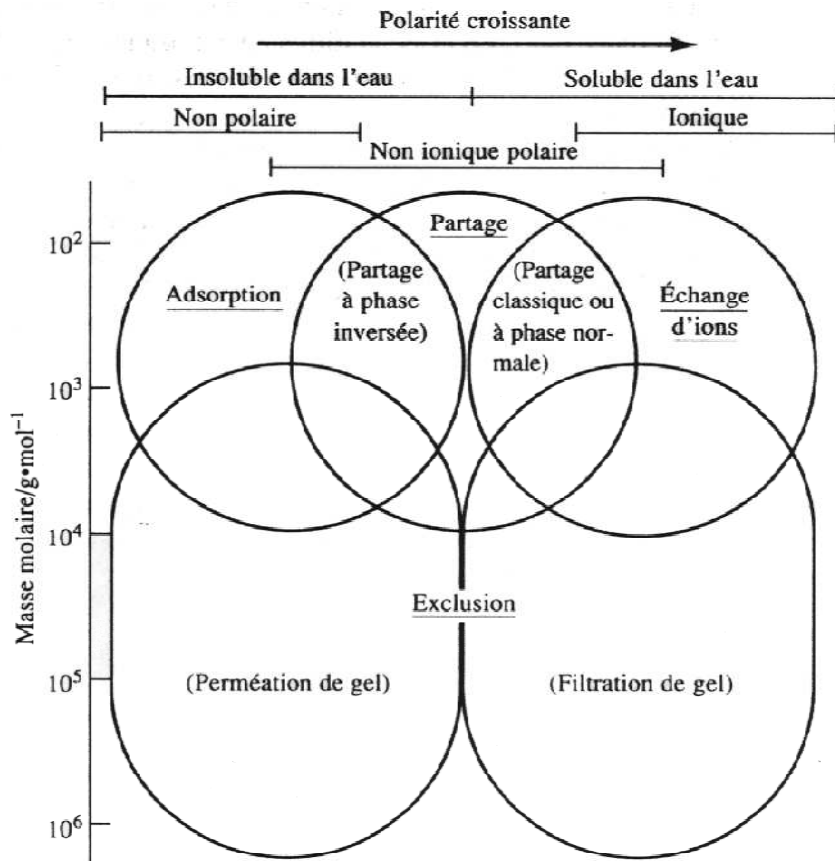
III-Types d'HPLC (mode de séparation) :[19]

La chromatographie liquide se subdivise en quatre domaines d'application qui sont :

- Chromatographie d'adsorption.
- Chromatographie de partage.
- Chromatographie par échange d'ions.
- Chromatographie d'exclusion (appariement d'ions).

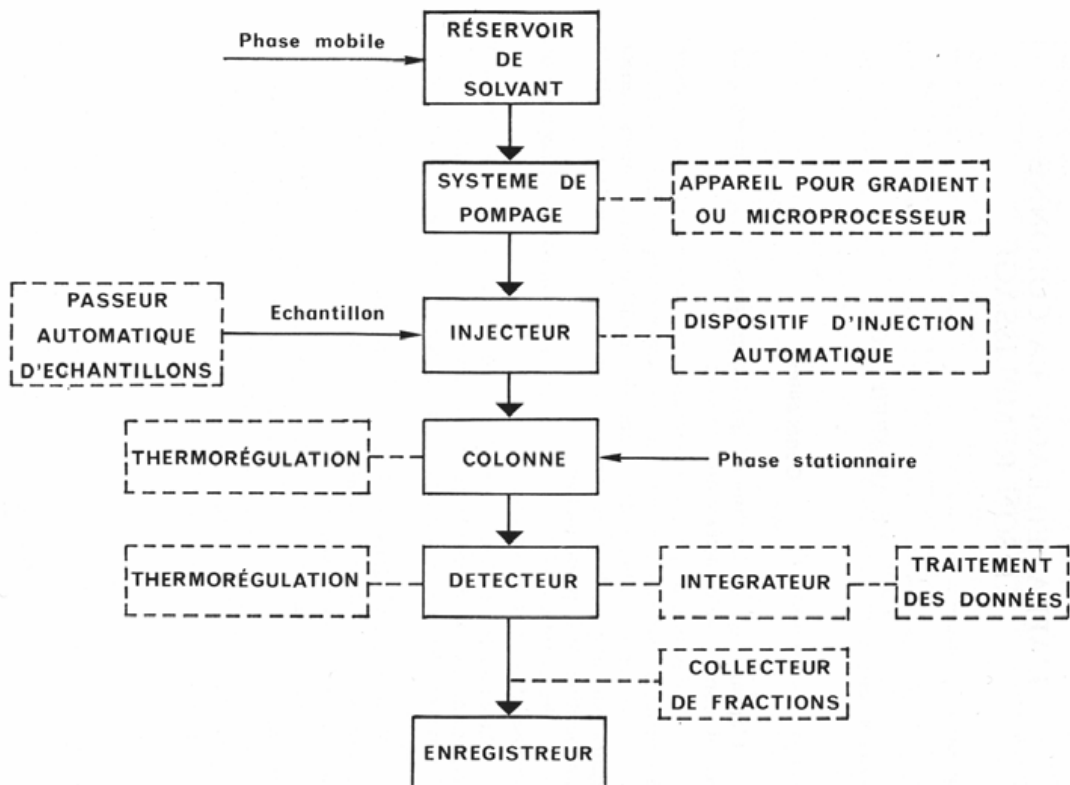
Le choix de la méthode chromatographique à mettre en œuvre, se fait suivant la polarité et la masse molaire des composés, comme l'indique le graphique ci-dessous ;

ANNEXES



- Pour les molécules de masses molaires élevées (>à 10 000 g·mol⁻¹), on utilise généralement une des deux méthodes d'exclusion : la perméation de gel pour les espèces non polaires et la filtration de gel pour les composés polaires ou ioniques.
- Pour les espèces ioniques de faibles masses molaires, on utilisera la chromatographie par échange d'ions.
- Pour les petites molécules non ioniques on préférera les analyser par des méthodes de partage.
- Pour les composés organiques relativement non polaires, insolubles dans l'eau et dont les masses molaires sont inférieures à environ 5000 g/mol, on utilisera la chromatographie par adsorption.

IV-Appareillage :



1/Réservoir de solvants :

Contient plusieurs flacons d'éluants différents, dont la polarité est différente, ce qui représente la phase mobile.

Les flacons ont une contenance d'environ 1 litre, ce qui permet de réaliser un nombre important d'analyses sans interruption. [20]

2/Pompe :

Assure l'écoulement constant et continue de la phase mobile à travers le système. Son mode de fonctionnement peut être isocratique ou gradient. [20]

3/Injecteurs :

Permettent une introduction (injection) du mélange de substances à analyser dans le flux de la phase mobile avant son entrée dans la colonne; l'injection doit se faire en un temps très bref afin de ne pas perturber le régime d'écoulement dans la colonne et le détecteur. [20]

4/Colonne :

Considérée comme étant le « cœur » de l'HPLC. En effet, il s'agit de l'endroit où la séparation des composants d'un échantillon a lieu à l'aide de différents paramètres physico-chimiques. [20]

5/Détecteur :

Dispositif d'enregistrement continu des propriétés physiques ou chimiques de l'effluent de la colonne.

Le plus utilisé dans l'analyse pharmaceutique est le détecteur par absorption dans l'ultraviolet et le visible, permettant la surveillance et l'enregistrement en continu des absorbances à une longueur d'onde donnée. [20]

6/Enregistreur :

Aussi appelé système de données. L'ordinateur contrôle non seulement tous les modules de l'instrument HPLC mais aussi, utilise le signal provenant du détecteur pour déterminer le temps d'éluion (rétention) des composants de l'échantillon (analyse qualitative) et la quantité de l'échantillon (analyse quantitative). [20]

V-Paramètres chromatographiques : [21]

➤ Grandeurs de rétention :

-Temps de rétention (t_R) :

Temps écoulé entre l'instant de l'injection du soluté et celui correspondant sur le chromatogramme au maximum du pic qui lui est lié.

$$t_R = \frac{d_R}{\mu_\varepsilon} = \frac{V_R}{D}$$

d_R : Distance de rétention.

V_R : Volume de rétention.

μ_ε : vitesse d'écoulement de

D : débit de la phase mobile.

-Temps de rétention réduit ou corrigé (t_R') :

$$t_R' = t_R - t_M$$

t_M : temps mort.

Le temps mort représente entre l'injection et la sortie d'un composé non retenu.

-Volume de rétention V_R :

C'est le volume de la phase mobile nécessaire pour entrainer le soluté jusqu'à la sortie de la colonne. Sur le chromatogramme il correspond au volume de phase mobile qui s'est écoulé entre l'instant de l'injection et celui correspondant au sommet du pic.

$$V_R = t_R * D$$

D : débit de la phase mobile.

Le volume de rétention V_R est relié directement au coefficient de distribution K par la relation :

$$V_R = V_M + K V_S$$

V_S : volume de la phase stationnaire.

K : coefficient de distribution du soluté entre la phase mobile et la phase stationnaire

$$K = C_S / C_M$$

C_S : concentration du soluté dans la phase stationnaire.

C_M : concentration du soluté dans la phase mobile.

-Facteur de rétention (de capacité) k' :

Ce paramètre rend compte de la faculté plus ou moins grande de la colonne à retenir chaque composé.

Quand un composé de masse totale m_T est introduit dans la colonne, il se répartit en deux quantités : m_S dans la phase stationnaire et m_M dans la phase mobile.

$$K' = m_S / m_M = \frac{C_S \cdot V_S}{C_M \cdot V_M} = K \frac{V_S}{V_M}$$

➤ **Efficacité d'une colonne :**

Elle se traduit par la finesse des pics obtenus pour les composés ; plus le pic est fin, plus la colonne est efficace, est exprimée par deux grandeurs : N et H.

- Nombre de plateaux théoriques N :

$$N=16 \frac{tR^2}{\omega^2} = 5.54 \frac{tR^2}{\delta^2}$$

Il correspond au nombre d'équilibres successifs qu'a subi un composant du mélange ; le t_R , ω ou δ doivent être exprimés dans la même unité (temps, distance ou volume écoulé si le débit est constant).

Plus le pic est fin, plus N est grand et donc plus la colonne est efficace.

- Hauteur équivalente en plateaux théoriques HEPT ou H :

$$H=L/N$$

L : longueur de la colonne.

Ce paramètre est calculé pour des composés de référence car il permet de comparer des colonnes de longueurs différentes, sa valeur dépend du composé choisi et des conditions de l'expérience.

➤ **Sélectivité (facteur de séparation) :**

$$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'} = \frac{tR_2 - tM}{tR_1 - tM} = \frac{tR_2'}{tR_1'}$$

Le facteur de séparation permet de préciser les positions relatives de deux pics adjacents sur un chromatogramme.

$\alpha = 1$: pas de séparation.

$\alpha > 1$ séparation d'autant plus facile.

➤ **Facteur de résolution R_S :**

$$R_S = 2 \frac{tR_2 - tR_1}{\omega_1 + \omega_2}$$

t_R : temps de rétention de chaque composé.

ω : largeur des pics à la base.

La résolution correspond à une grandeur numérique caractérisant l'aptitude du système chromatographique à séparer deux composés d'un mélange.

On observe que la séparation entre deux pics est meilleure quand R_S est plus grand.

$R_S \leq 0.8$ séparation insuffisante.

$R_S \leq 1$ chevauchement des pics.

$R_S = 1$, 2% de chevauchement des pics.

$R_S \geq 1.5$ bonne séparation.

➤ **Symétrie des pics :**

Dans des conditions thermodynamiques optimales les pics sont d'allure gaussienne. Dans la réalité les pics sont rarement gaussiens et présentent souvent des dissymétries voir des déformations.

L'asymétrie d'un pic est exprimé sous forme de rapports appelés facteur d'asymétrie, facteur de symétrie ou facteur de traînée.

$$A_S = \frac{\omega_{0.05}}{2A}$$

$\omega_{0.05}$: largeur du pic au vingtième de sa hauteur.

A : distance entre la perpendiculaire abaissée du maximum du pic et le bord d'entrée au vingtième de sa hauteur.

VI-Analyse quantitative : [22]

Pour calculer la concentration massique d'un composé responsable d'un pic sur le chromatogramme il faut réunir deux conditions : disposer d'un échantillon authentique du composé que l'on veut doser, à usage de référence, pour déterminer la sensibilité du détecteur à son égard, et disposer d'un logiciel pour connaître soit les hauteurs soit les aires des différents pics d'éluion d'intérêt.

Pour un réglage donné de l'appareil, on admet qu'il existe pour chaque pic du chromatogramme une relation linéaire entre son aire (ou sa hauteur) et la qualité du composé responsable de ce pic dans l'échantillon injecté.

$$m_i = K_i \times A_i$$

Avec :

m_i : masse du composé « i » injecté dans la colonne.

A_i : aire du pic correspondant.

K_i : facteur de proportionnalité ou coefficient de réponse. Il dépend du réglage du chromatographe (n'est pas un facteur intrinsèque du composé).

$$C_i = m_i/V \iff m_i = c_i \cdot V$$

C_i : concentration du soluté.

V : volume injecté

L'analyse quantitative se ramène donc à la détermination des deux grandeurs :

- L'aire du pic A_i
- Facteur de proportionnalité relatif à ce pic K_i .

VII-Méthodes de l'étalonnage :

❖ Méthode de l'étalonnage externe : [22]

Cette méthode permet de calculer la teneur (en terme de concentration ou de pourcentage massique) d'un ou plusieurs constituants apparaissant séparés sur le chromatogramme, même en présence d'autres composés donnant des pics non résolus. De mise en œuvre facile, elle correspond à l'application d'un principe commun à beaucoup de dosages.

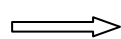
Le procédé repose sur la comparaison de deux chromatogrammes obtenus successivement sans changer les conditions de réglage de l'appareil.

ANNEXES

Le premier est un chromatogramme de référence acquis à partir d'une solution de référence dans un solvant, du composé qui fait l'objet du dosage, on injecte un volume V de cette solution et on repère sur le chromatogramme l'aire A_{std} .

Le second résulte de l'injection d'un volume identique V de l'échantillon en solution, contenant le composé à doser, dont A_{ech} est l'aire du pic correspondant.

$$m_{std} = C_{std} \cdot V = K \cdot A_{std} \quad \text{et} \quad m_{ech} = C_{ech} \cdot V = K \cdot A_{ech}$$



$$C_{ech} = C_{std} \cdot \frac{A_{ech}}{A_{std}}$$

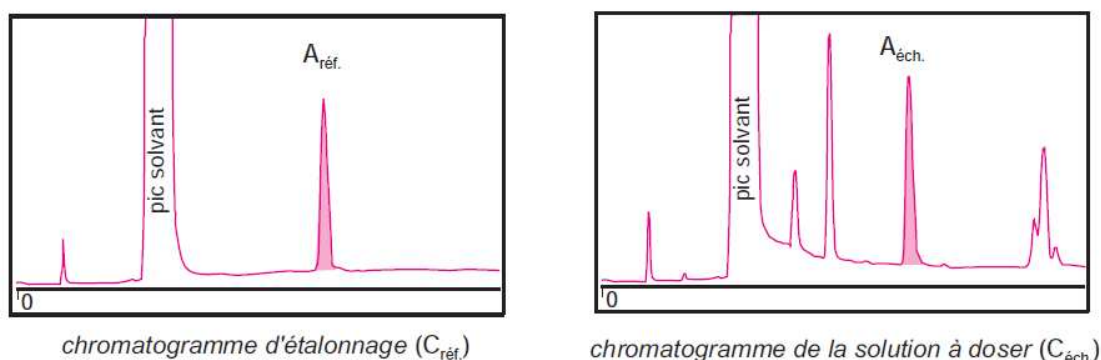


Figure : méthode de dosage par étalonnage externe.

❖ Méthode de l'étalonnage interne : [22]

On compare la réponse du ou des produits à analyser à celle d'un étalon interne, donc introduit dans le mélange à doser et convenablement choisi, cela permet de s'affranchir de l'imprécision concernant les volumes injectés, un handicap de la précédente méthode.

La méthode nécessite, ici encore, deux chromatogrammes, l'un pour calculer les coefficients de réponse relatifs et l'autre pour l'analyse de l'échantillon.

Les aires de pics des produits à quantifier sont donc comparées avec celle d'un composé de référence, appelé étalon interne, introduit à une concentration connue dans l'échantillon.

- Calcul des coefficients de réponse relatifs :

Supposons que l'échantillon contienne deux composés à doser 1 et 2, et que le composé E désigne un composé supplémentaire à usage d'étalon interne.

ANNEXES

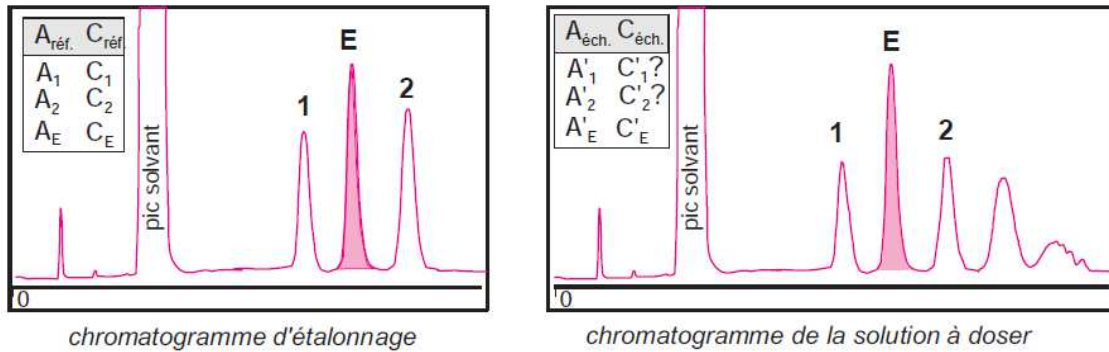


Figure : méthode d'analyse par étalonnage interne.

Dans une première étape, on commence par préparer une solution de concentration C_1 en 1, C_2 en 2 et C_E en E . Appelons A_1 , A_2 et A_E les aires des pics d'éluion repérés sur le chromatogramme obtenu à partir d'une prise d'essai de cette solution. Si m_1 , m_2 et m_E sont les quantités réellement introduites dans la colonne, on peut écrire les trois relations comme suit :

$$m_1 = K_1 \cdot A_1$$

$$m_2 = K_2 \cdot A_2$$

$$m_E = K_E \cdot A_E$$

Soit :

$$\frac{m_1}{m_2} = \frac{K_1 \cdot A_1}{K_2 \cdot A_2} \quad \text{et} \quad \frac{m_2}{m_E} = \frac{K_2 \cdot A_2}{K_E \cdot A_E}$$

Ces rapports permettent de calculer les coefficients de réponse relatifs de 1 et de 2 vis-à-vis de E choisi comme étalon, et désignés par $K_{1/E}$ et $K_{2/E}$:

$$K_{1/E} = \frac{K_1}{K_2} = \frac{m_1 \cdot A_E}{m_E \cdot A_1} \quad \text{et} \quad K_{2/E} = \frac{K_2}{K_E} = \frac{m_2 \cdot A_E}{m_E \cdot A_2}$$

Comme les masses m_i réellement injectées sont proportionnelles aux concentrations massiques correspondantes C_i ($m_i = C_i \cdot V$), on en déduit les deux expressions suivantes :

$$K_{1/E} = \frac{C_1 \cdot A_E}{C_E \cdot A_1} \quad \text{et} \quad K_{2/E} = \frac{C_2 \cdot A_E}{C_E \cdot A_2}$$

▪ Calcul des concentrations :

La seconde étape de l'analyse consiste à chromatographier un volume quelconque d'une solution faite avec l'échantillon à étudier et dans laquelle a été ajoutée une quantité connue du composé E . Soient A'_1 , A'_2 et A'_E , les aires du nouveau chromatogramme obtenu dans les mêmes conditions opératoires. Si m'_1 , m'_2 et m'_E désignent les masses de 1, 2 et E réellement introduites dans la colonne, on aura :

ANNEXES

$$\frac{m'1}{m'2} = K_{1/E} \frac{A'1}{A'2} \quad \text{et} \quad \frac{m'2}{m'E} = K_{2/E} \frac{A'2}{A'E}$$

À partir des coefficients relatifs calculés dans la première expérience ainsi que de la concentration de l'étalon interne dans l'échantillon, C'_E , connue, on accède à :

$$C'_1 = C'_E K_{1/E} \frac{A'1}{A'E} \quad \text{et} \quad C'_2 = C'_E K_{2/E} \frac{A'2}{A'E}$$

En généralisant à n constituants, on peut calculer la concentration massique du soluté i au moyen de l'expression :

$$C'_i = C'_E K_{i/E} \frac{A'_i}{A'_E}$$

Et en déduire sa teneur dans l'échantillon, exprimée en %,

$$X1\% = \frac{C'1}{\text{Masse d'échantillon prélevée}} \times 100.$$

Cette méthode est encore plus précise si on fait plusieurs injections de l'étalon ou de l'échantillon à doser. En conclusion cette méthode générale et reproductible exige néanmoins un bon choix de l'étalon interne.

Annexe 2 : UV

La spectroscopie est l'étude d'interaction entre matière et rayonnements électromagnétiques, qui sont, selon la théorie quantique, une association de particules énergétiques dits photons et d'ondes transversales. La spectroscopie d'absorption repose de ce fait sur les propriétés des molécules d'un échantillon à absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. [22]

I-Principe :

L'énergie d'un photon, transporté par un rayonnement électromagnétique, est donnée par la relation $E = h \cdot \nu$. Lorsque cette dernière est égale à la différence énergétique $E_0 - E^*$ entre l'état fondamental et un des états excités de la particule, il y a absorption de l'énergie du photon. [23]

II-Transition électronique : [22]

On désigne par transition électronique, le passage des électrons des orbitales moléculaires liantes et non liantes remplies vers des orbitales moléculaires anti-liantes non remplies. Lorsqu'une molécule absorbe un photon de l'UV-Visible, l'énergie correspondante est captée par un ou plusieurs de ses électrons superficiels. Il y a alors modification de son énergie électronique E_{ele} , l'une des trois composantes avec l'énergie de vibration E_{vib} et l'énergie de rotation E_{rot} de l'énergie mécanique totale de la molécule. La modification de l'énergie électronique entraîne des perturbations de l'énergie de rotation et de vibration, ce qui permet d'obtenir un large ensemble de transitions électroniques possibles. Cependant, toutes transitions énergétiquement possibles ne sont pas permises. Pour cela, des règles de sélection établies par la théorie quantique, permettent de déterminer si une transition est permise ou non.

Les transitions permises correspondent à celles qui provoquent une variation du moment dipolaire électrique. De plus, le photon absorbé fait changer la symétrie de l'orbitale occupée mais pas le spin de l'électron.

Les composés de la chimie organique forment l'essentiel des études faites en UV visible. Les transitions observées ont pour origine les électrons des liaisons σ ou π et les doublets non liants n des atomes H, C, N, O.

III-Types de transitions : [22]

- **Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$**

Les liaisons σ des composés organiques sont très stables, ce qui fait que la transition d'un électron d'une orbitale moléculaire liante σ à une orbitale moléculaire anti liante σ^* demande une grande énergie. La bande d'absorption correspondante est intense et située dans l'UV lointain vers 130nm

Exple : Hexane $\lambda_{\max} = 135\text{nm}$

- **Transition $n \rightarrow \pi^*$**

Elle résulte du passage d'un électron d'une orbitale moléculaire non liante n à une orbitale moléculaire anti-liante π^* . Elle concerne les molécules comportant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres appartenant à un système insaturé.

Exple : Ethanal $\lambda_{\max} = 293\text{nm}$

- **Transition $n \rightarrow \sigma^*$**

Il s'agit du transfert d'un électron du doublet n d'un hétéroatome (O, N, S, Cl...) à un niveau σ^* . Elle est observée pour les alcools, les éthers, les amines ... Cette transition donne une bande d'intensité moyenne se situant à l'extrême limite du proche UV.

Exemple : Méthanol $\lambda_{\max} = 183\text{nm}$

Ethylamine $\lambda_{\max} = 210\text{nm}$

- **Transition $\pi \rightarrow \pi^*$**

Pour les composés qui possèdent une double liaison conduisant à une forte absorption : 165 à 200 nm.

Exemple : Ethylène $\lambda_{\max} = 165\text{nm}$

- **Transition $d \rightarrow d$**

Elle concerne les complexes colorés des métaux principalement.

IV-Bandes d'absorption : [24]

Les bandes d'absorption sont caractérisées par :

- La longueur d'onde de leur maximum d'absorption (λ_{\max})
- L'intensité (ϵ_{\max})

On distingue quatre types de bandes d'absorption correspond aux transitions électroniques. Selon la notation de BURAWOY, on retrouve les bandes R, K, B et E.

1/ Bande R (Radicalaire) :

Elle correspond à la transition $n \rightarrow \pi^*$ qui est de faible énergie

Elle traduit une faible absorption molaire.

Les trois autres bandes correspondent à la transition électronique $\pi \rightarrow \pi^$*

2/ Bande K (Conjugué) :

Elle traduit une forte absorption molaire

3/ Bande B (Benzénoides) :

Elle apparait dans les spectres des molécules aromatiques ou hétéroatomiques. Il s'agit de bande de structure fine.

4/ Bande E (Ethylénique) :

Elle apparait dans les spectres de molécules aromatiques substituées par des groupements auxochromes. L'absorption se situe entre 2000 et 14000

TABLEAU 2.1 : Récapitulatif des différentes bandes d'absorption.

Bande	Transition	Origine	Remarques
R	$n \longrightarrow \pi^*$	Chromophores isolés —C=O, NO ₂	ϵ_{\max} faible < 100
K	$\pi \longrightarrow \pi^*$	Doubles liaisons conjuguées	Bandes existant aussi dans des molécules aromatique portant des substituant chromophoriques ϵ_{\max} élevée > 10000
B	$\pi \longrightarrow \pi^*$	Molécules aromatiques et hétéroaromatiques	Les substituants chromophoriques ont un effet bathochrome . Bande de structure fine ϵ_{\max} < 1000.
E	$\pi \longrightarrow \pi^*$	Structure aromatique attribuée aux 3 doublets liaisons cycliques conjuguées	Benzène 2 bandes : E1 E2 vers 180nm 200nm $\epsilon_{\max} \approx$ 2000 1400

V-Groupements Chromophores [22]

Ce sont des groupements d'atomes responsables de l'absorption. Ils sont caractérisés par la présence constante de liaisons multiples dans leur structure.

On peut citer par exemple : C=C, C=O, C=N, C≡C, C≡N...

On en distingue principalement deux types :

- *Les chromophores isolés* : pour une série de molécules possédant le même groupement chromophore, la position et l'intensité des bandes d'absorption restent constantes. Si une molécule possède plusieurs groupements chromophores isolés c'est-à-dire qu'ils sont séparés par au moins deux liaisons simples, on observe la superposition des effets de chacun des chromophores individuels.
- *Les chromophores des systèmes conjugués* : quand les chromophores interagissent les uns sur les autres, le spectre d'absorption est déplacé vers de grandes longueurs d'onde avec augmentation de l'intensité d'absorption.

TABLEAU 2.2 : Principaux groupements chromophores.

Chromophore	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max} (nm)
C=C (alcène)	173	10000
C≡C (alcyne)	178	20000
C=O (cétone)	290	16
CH=O (aldéhyde)	279	15
COOH (acide)	208	32
COCl (chlorure acide)	220	100
CONH ₂ (amide)	220	63
COOR (ester)	211	57
NO ₂ (nitro)	214	17
N=N (azométhane)	338	4

VI-Spectre d'absorption [22]

Les spectres dans l'UV-Visible donnent la l'absorbance de l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde du rayonnement ou parfois du nombre d'onde.

Certains spectres donnent la transmittance T déterminée par la relation au lieu de l'absorbance:

$$T = I / I_0$$

Avec I étant l'intensité transmise, et I₀ celle incidente

La transmittance et l'absorbance sont reliées par : $A = -\log T$

La bande d'absorption est caractérisée par sa position en longueur d'onde λ_{\max} (en nm) ou en nombre d'onde (en cm⁻¹) et par son intensité reliée au coefficient d'extinction molaire ϵ_{\max} ($A = \epsilon lc$). La position du maximum d'absorption correspond à la longueur d'onde de la radiation qui provoque la transition électronique. Quant à l'intensité, on peut montrer qu'elle est liée au moment dipolaire. Sa valeur ϵ permet de savoir si la transition est permise ou interdite.

VII-Effets dus au solvant : [24]

La position et l'intensité des bandes d'absorption vont varier avec la nature du solvant employé.

Chaque solvant a un spectre d'absorption résultant de ses groupements fonctionnels. Ainsi, pour chaque solvant on définit une limite d'utilisation appelée « Cut-off point » : elle correspond à la longueur d'onde en dessous de laquelle le solvant ne peut être utilisé.

Tableau 2.3 : Cut-off de quelques solvants :

Solvant	Cut-Off (nm)
Eau	205
Méthanol	210
Acétonitrile	210
Acétone	330
Dichlorométhane	235

La polarité du solvant employé entraîne une modification des spectres avec l'élargissement des bandes d'absorption. A titre d'exemple, dans un solvant apolaire, le spectre d'un composé est identique à celui observé en phase vapeur. Dans un solvant polaire, il y a élargissement des bandes qui augmente proportionnellement avec la polarité du solvant.

L'interaction entre solvant polaire, électrons π à l'état excité et électrons n à l'état fondamental du soluté est dite interaction dipôle – dipôle

Selon le type de bande concernée, deux effets sont suscités :

- Effet Hypsochrome : Blue Shift pour la bande R

Si le chromophore responsable de la transition observée est plus polaire dans son état fondamental que dans son état excité, le solvant polaire aura tendance à stabiliser surtout la forme avant absorption du photon. Il faut ainsi, plus d'énergie pour provoquer la transition électronique d'où un déplacement du maximum d'absorption vers les courtes longueurs d'onde : il s'agit de l'effet hypsochrome.

- Effet Bathochrome : Red Shift pour la bande K

Pour les composés peu polaires, l'effet du solvant est faible. Par contre si le moment dipolaire du chromophore augmente au cours de la transition, l'état final sera plus solvato. Un solvant polaire déstabilisera la forme excitée ce qui favorisera la transition : on observe un déplacement vers les grandes longueurs d'onde par comparaison au spectre obtenu dans un solvant non polaire : il s'agit de l'effet bathochrome.

VIII-Effet des liaisons hydrogènes : [24]

Il s'agit de l'interaction d'un atome d'hydrogène du solvant avec un doublet d'une orbitale n du soluté. Ceci provoque la diminution du niveau énergétique n d'où l'effet hypsochrome sur la bande R

IX-Effet du pH : [24]

Cet effet concerne uniquement les molécules susceptibles d'échanger des protons à savoir les acides ou bases faibles.

X-Appareillage [25]

Le spectrophotomètre UV-Visible est constitué de trois composantes essentiellement :

- La source
- Le système dispersif
- Le détecteur

Cependant, cet appareillage est subdivisé en deux types :

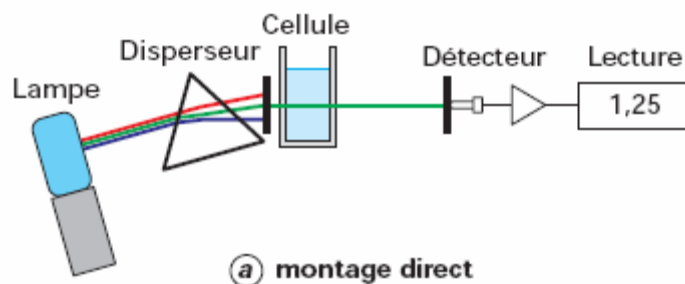
- Les appareils à simple faisceau
- Les appareils à double faisceau

Parmi le premier type, on retrouve deux montages selon qu'il est normal ou inversé :

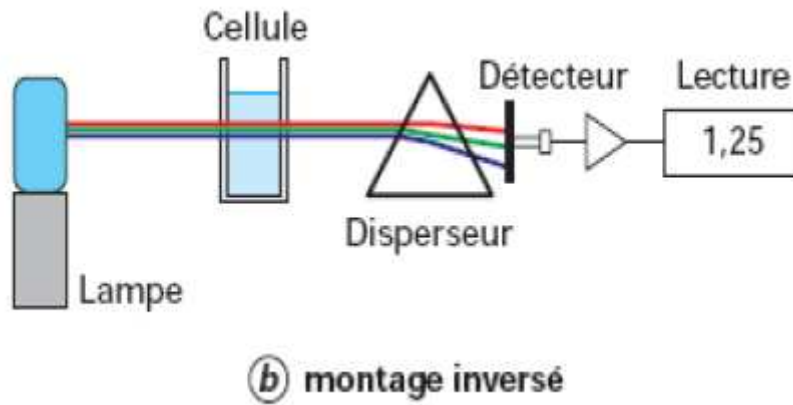
- *Montage à optique normale :*

Lampe → Disperseur → Cellule échantillon → Détecteur

La lumière issue de la source est blanche polychromatique. Suite au passage dans le disperseur, elle est décomposée avant d'atteindre la cellule échantillon.



- *Montage à optique inverse :*



Lampe → Cellule échantillon → Disperseur → Détecteur

Dans ce type de montage, la lumière blanche polychromatique traverse la cellule échantillon avant d'être dispersée.

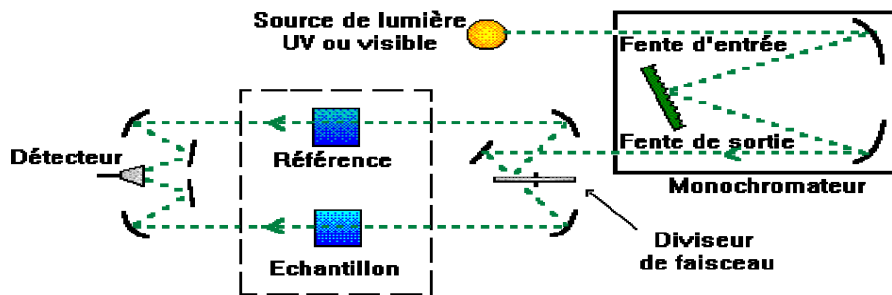
En ce qui concerne le second type, un faisceau traverse la cellule de référence tandis que le second faisceau traverse la cellule échantillon.

→ Cellule échantillon

Lampe → Disperseur

→ Détecteur

→ Cellule référence



1/ La source

Deux types de source sont couramment utilisées.

Une lampe à incandescence à filament de tungstène pour la partie visible du spectre.

Une lampe à décharge au deutérium sous moyenne pression pour les longueurs d'onde plus courtes.

On peut utiliser également une lampe à décharge au xénon pour la partie visible du spectre et quand les appareils ont une gamme spectrale limitée à 300 – 1100 nm. Elle fonctionne sous forme de flash, juste au moment de faire la mesure.

2/ Système dispersif

Selon que l'appareil est séquentiel ou simultané

- Pour les appareils séquentiels

Un dispositif permet d'extraire un domaine étroit du spectre d'émission de la lumière émise par la source. Il s'agit du monochromateur, un réseau plan ou concave dispersant la lumière. Les monochromateurs ayant une distance focale grande, on obtient une meilleure résolution.

- Pour les appareils simultanés

Ils comportent un réseau situé après la cuve de l'échantillon afin de diffracter les radiations émises par la source.

3/ Le détecteur

Il a pour rôle de convertir l'intensité de la radiation lumineuse qui l'atteint en un signal électrique. Ils sont de type :

- Barrette de photodiodes pour les appareils simultanés c'est-à-dire ne possédant pas de monochromateur mais un réseau simple. On mesure les intensités lumineuses à toutes les longueurs d'ondes au même instant en alignant un grand nombre de détecteurs quasi ponctuels, ce qui forme la barrette de diodes.
- Photomultiplicateur : Il détecte une seule longueur à la fois, on dit que le spectre est obtenu de manière séquentielle en fonction du temps.

XI-Application de la spectroscopie d'absorption

- *Aspect qualitatif*

Le spectre UV-Visible ne permet pas l'identification des composés mais celle des groupements chromophores qu'ils contiennent.

- *Aspect quantitatif*

L'analyse quantitative peut se faire par dosage directe ou indirecte selon que les substances sont absorbantes ou pas.

L'utilisation de l'UV comme technique de dosage représente 95% des analyses quantitatives dans le domaine de la santé.

Loi de Beer – Lambert [24]

Par convention

$$I = I_0 e^{-\epsilon l c}$$

Avec I_0 est l'intensité de la radiation incidente

I est l'intensité de la radiation transmise

$$\log I = \log I_0 \cdot \log(e^{-\epsilon l c})$$

$$\log I = -\log I_0 \cdot \epsilon l c$$

$$\log I/I_0 = -\epsilon l c \quad \rightarrow \quad \log I_0/I = \epsilon l c$$

D'où

$$A = \log I_0/I = \epsilon l c$$

A : absorbance

l : longueur du trajet optique dans la solution en cm

C : concentration en espèce absorbante en mol.l⁻¹

ϵ : coefficient d'extinction ou d'absorption en l.mol⁻¹.cm⁻¹. Il est donné à une longueur d'onde donnée pour une espèce précise, il ne dépend pas de la concentration des espèces absorbantes.

La loi de Beer-Lambert est valable sous certaines conditions : [22]

Le faisceau lumineux émis de la source doit être monochromatique

La solution doit être suffisamment diluée ($C < 10^{-2}$ M), ni fluorescente, ni hétérogène

Le soluté ne doit donner lieu à des transformations photochimiques

Par contre, cette loi peut ne pas être applicable dans le cas où :

Il y a association moléculaire entre le soluté et le solvant

Il y a modification chimique qui a lieu suite au rayonnement

Il y a fluorescence de l'échantillon

Il y a présence d'impuretés sous forme de traces

Il y a interaction entre les molécules absorbantes.

Plusieurs méthodes existent afin de déterminer une concentration par dosage UV-Visible : [24]

- *Méthode directe :*

Le composé à doser est le seul à absorber à la longueur d'onde utilisée.

Le principe de cette méthode est relativement simple.

- *Méthode indirecte :*

Elle regroupe deux cas. Si le composé à doser n'est pas le seul à absorber dans le domaine spectral. Le dosage requiert alors dans un premier temps la transformation du composé à doser par une réaction totale en un dérivé dont l'absorption se situe dans une région libre de toute interférence. Puis dans un second temps, le dosage proprement dit du dérivé.

Le deuxième cas concerne un composé qui ne possède pas de chromophore exploitable. Dans ce cas, on fait apparaître un groupement chromophore par une réaction de dérivation de l'espèce à étudier. Le dérivé obtenu absorbe alors dans le domaine de l'UV-Visible.

- *Méthode de dosage simultanée de deux composés*

Comme son l'indique, il s'agit de la mesure simultanée de la concentration de deux composés.

- *Méthode de détermination des points de fin de titrage*

Annexe 3 : LOI NORMALE

Ces lois introduites indépendamment par Gauss et par Laplace sont les plus fréquemment rencontrées dans la nature. De ce fait leur importance en statistique est primordiale. Nous pouvons affirmer que sans elles la statistique n'existerait pas.

Définition 1 :

Une variable aléatoire continue X suit une loi de Gauss, ou de Laplace - Gauss ou encore une loi Normale, de paramètres $\mu \in \mathbb{R}$ et $\sigma \in \mathbb{R}_+^*$ si elle admet pour densité de probabilité la fonction :

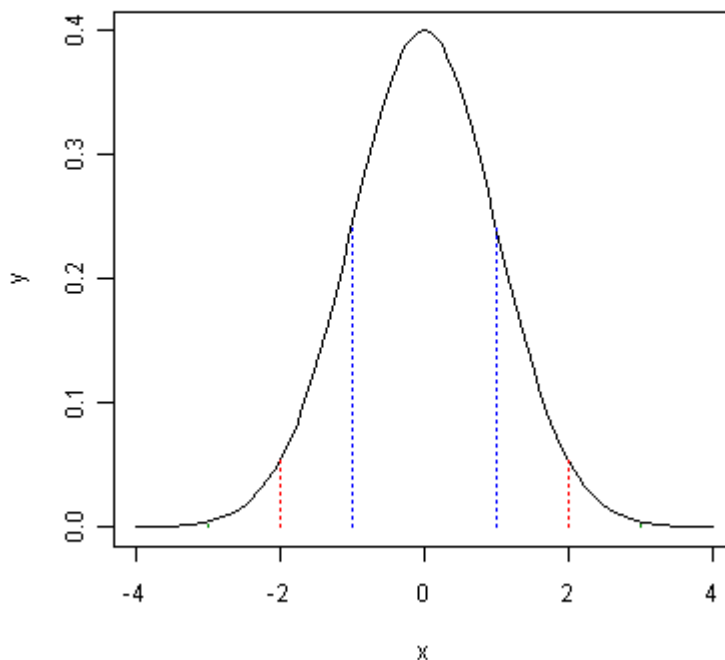
$$f_X(t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{1}{2\sigma^2}(t - \mu)^2\right), t \in \mathbb{R}$$

Ceci est noté $L(X) = N(\mu; \sigma^2)$. Si $\mu = 0$ et $\sigma = 1$, nous dirons que X suit la loi Normale centrée réduite, ou encore la loi Normale standard, $N(0; 1)$.

La figure ci-dessous représente la courbe d'une densité de loi Normale gaussienne $L(X) = N(\mu; \sigma^2)$, avec $\mu = 0$ et $\sigma = 1$.

Elle est en forme de cloche, symétrique par rapport à la droite verticale d'abscisse $t = 0$ [26]

Fig. 1. Densité Normale Standard.



ANNEXES

Annexe 4 : Table de KOLMOGOROV-SMIRNOV

$\alpha \backslash n$	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,01	1,0000	0,9950	0,9293	0,8290	0,7342	0,6685	0,6166	0,5758	0,5418	0,5133
0,05	1,0000	0,9750	0,8419	0,7076	0,6239	0,5633	0,5193	0,4834	0,4543	0,4300
0,10	1,0000	0,9500	0,7764	0,6360	0,5652	0,5094	0,4680	0,4361	0,4096	0,3875
0,15	1,0000	0,9250	0,7261	0,5958	0,5248	0,4744	0,4353	0,4050	0,3806	0,3601
0,20	1,0000	0,9000	0,6838	0,5648	0,4927	0,4470	0,4104	0,3815	0,3583	0,3391

$\alpha \backslash n$	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
0,01	0,4889	0,4677	0,4490	0,4325	0,4176	0,4042	0,3920	0,3809	0,3706	0,3612
0,05	0,4092	0,3912	0,3754	0,3614	0,3489	0,3376	0,3273	0,3180	0,3094	0,3014
0,10	0,3687	0,3524	0,3381	0,3255	0,3142	0,3040	0,2947	0,2863	0,2785	0,2714
0,15	0,3425	0,3273	0,3141	0,3023	0,2918	0,2823	0,2737	0,2659	0,2587	0,2520
0,20	0,3226	0,3083	0,2957	0,2847	0,2748	0,2658	0,2577	0,2503	0,2436	0,2373

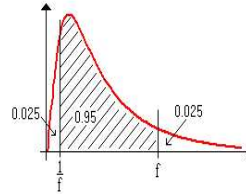
$\alpha \backslash n$	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
0,01	0,3524	0,3443	0,3367	0,3295	0,3229	0,3166	0,3106	0,3050	0,2997	0,2947
0,05	0,2941	0,2872	0,2809	0,2749	0,2693	0,2640	0,2591	0,2544	0,2499	0,2457
0,10	0,2647	0,2586	0,2528	0,2475	0,2424	0,2377	0,2332	0,2290	0,2250	0,2212
0,15	0,2459	0,2402	0,2348	0,2298	0,2251	0,2207	0,2166	0,2127	0,2089	0,2054
0,20	0,2315	0,2261	0,2211	0,2164	0,2120	0,2079	0,2040	0,2003	0,1968	0,1934

ANNEXES

Annexe 5 : Table de FISHER SNEDECOR

Table : Loi de Fisher-Snedecor

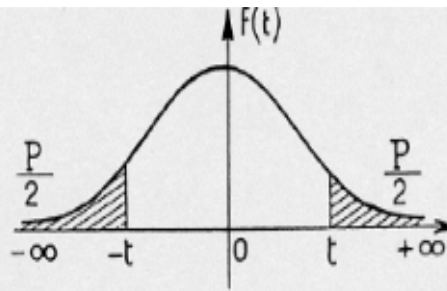
Valeur f de la variable de Fisher-Snedecor $F(v_1; v_2)$ ayant la probabilité 0.025 d'être dépassée



v1 : degrés de liberté du numérateur																															
v2 : degrés de liberté du dénominateur																															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	22	24	26	28	30						
1	647.79	799.48	864.15	899.60	921.83	937.11	948.20	956.64	963.28	968.63	973.03	976.72	979.84	982.55	984.87	986.91	988.72	990.35	991.80	993.08	995.35	997.27	998.84	1000.24	1001.40						
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.41	39.42	39.43	39.43	39.44	39.44	39.44	39.45	39.45	39.45	39.46	39.46	39.46	39.46	39.46					
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.37	14.34	14.30	14.28	14.25	14.23	14.21	14.20	14.18	14.17	14.14	14.12	14.11	14.09	14.08						
4	12.22	10.65	9.98	9.60	9.36	9.20	9.07	8.98	8.90	8.84	8.79	8.75	8.72	8.68	8.66	8.63	8.61	8.59	8.58	8.56	8.53	8.51	8.49	8.48	8.46						
5	10.01	8.43	7.76	7.39	7.15	6.98	6.85	6.76	6.68	6.62	6.57	6.52	6.49	6.46	6.43	6.40	6.38	6.36	6.34	6.33	6.30	6.28	6.26	6.24	6.23						
6	8.81	7.26	6.60	6.23	5.99	5.82	5.70	5.60	5.52	5.46	5.41	5.37	5.33	5.30	5.27	5.24	5.22	5.20	5.18	5.17	5.14	5.12	5.10	5.08	5.07						
7	8.07	6.54	5.89	5.52	5.29	5.12	4.99	4.90	4.82	4.76	4.71	4.67	4.63	4.60	4.57	4.54	4.52	4.50	4.48	4.47	4.44	4.41	4.39	4.38	4.36						
8	7.57	6.06	5.42	5.05	4.82	4.65	4.53	4.43	4.36	4.30	4.24	4.20	4.16	4.13	4.10	4.08	4.05	4.03	4.02	4.00	3.97	3.95	3.93	3.91	3.89						
9	7.21	5.71	5.08	4.72	4.48	4.32	4.20	4.10	4.03	3.96	3.91	3.87	3.83	3.80	3.77	3.74	3.72	3.70	3.68	3.67	3.64	3.61	3.59	3.58	3.56						
10	6.94	5.46	4.83	4.47	4.24	4.07	3.95	3.85	3.78	3.72	3.66	3.62	3.58	3.55	3.52	3.50	3.47	3.45	3.44	3.42	3.39	3.37	3.34	3.33	3.31						
11	6.72	5.26	4.63	4.28	4.04	3.88	3.76	3.66	3.59	3.53	3.47	3.43	3.39	3.36	3.33	3.30	3.28	3.26	3.24	3.23	3.20	3.17	3.15	3.13	3.12						
12	6.55	5.10	4.47	4.12	3.89	3.73	3.61	3.51	3.44	3.37	3.32	3.28	3.24	3.21	3.18	3.15	3.13	3.11	3.09	3.07	3.04	3.02	3.00	2.98	2.96						
13	6.41	4.97	4.35	4.00	3.77	3.60	3.48	3.39	3.31	3.25	3.20	3.15	3.12	3.08	3.05	3.03	3.00	2.98	2.96	2.95	2.92	2.89	2.87	2.85	2.84						
14	6.30	4.86	4.24	3.89	3.66	3.50	3.38	3.29	3.21	3.15	3.09	3.05	3.01	2.98	2.95	2.92	2.90	2.88	2.86	2.84	2.81	2.79	2.77	2.75	2.73						
15	6.20	4.77	4.15	3.80	3.58	3.41	3.29	3.20	3.12	3.06	3.01	2.96	2.92	2.89	2.86	2.84	2.81	2.79	2.77	2.76	2.73	2.70	2.68	2.66	2.64						
16	6.12	4.69	4.08	3.73	3.50	3.34	3.22	3.12	3.05	2.99	2.93	2.89	2.85	2.82	2.79	2.76	2.74	2.72	2.70	2.68	2.65	2.63	2.60	2.58	2.57						
17	6.04	4.62	4.01	3.66	3.44	3.28	3.16	3.06	2.98	2.92	2.87	2.82	2.79	2.75	2.72	2.70	2.67	2.65	2.63	2.62	2.59	2.56	2.54	2.52	2.50						
18	5.98	4.56	3.95	3.61	3.38	3.22	3.10	3.01	2.93	2.87	2.81	2.77	2.73	2.70	2.67	2.64	2.62	2.60	2.58	2.56	2.53	2.50	2.48	2.46	2.44						
19	5.92	4.51	3.90	3.56	3.33	3.17	3.05	2.96	2.88	2.82	2.76	2.72	2.68	2.65	2.62	2.59	2.57	2.55	2.53	2.51	2.48	2.45	2.43	2.41	2.39						
20	5.87	4.46	3.86	3.51	3.29	3.13	3.01	2.91	2.84	2.77	2.72	2.68	2.64	2.60	2.57	2.55	2.52	2.50	2.48	2.46	2.43	2.41	2.39	2.37	2.35						
21	5.83	4.42	3.82	3.48	3.25	3.09	2.97	2.87	2.80	2.73	2.68	2.64	2.60	2.56	2.53	2.51	2.48	2.46	2.44	2.42	2.39	2.37	2.34	2.33	2.31						
22	5.79	4.38	3.78	3.44	3.22	3.05	2.93	2.84	2.76	2.70	2.65	2.60	2.56	2.53	2.50	2.47	2.45	2.43	2.41	2.39	2.36	2.33	2.31	2.29	2.27						
23	5.75	4.35	3.75	3.41	3.18	3.02	2.90	2.81	2.73	2.67	2.62	2.57	2.53	2.50	2.47	2.44	2.42	2.39	2.37	2.36	2.33	2.30	2.28	2.26	2.24						
24	5.72	4.32	3.72	3.38	3.15	2.99	2.87	2.78	2.70	2.64	2.59	2.54	2.50	2.47	2.44	2.41	2.39	2.36	2.35	2.33	2.30	2.27	2.25	2.23	2.21						
25	5.69	4.29	3.69	3.35	3.13	2.97	2.85	2.75	2.68	2.61	2.56	2.51	2.48	2.44	2.41	2.38	2.36	2.34	2.32	2.30	2.27	2.24	2.22	2.20	2.18						
26	5.66	4.27	3.67	3.33	3.10	2.94	2.82	2.73	2.65	2.59	2.54	2.49	2.45	2.42	2.39	2.36	2.34	2.31	2.29	2.28	2.24	2.22	2.19	2.17	2.16						
27	5.63	4.24	3.65	3.31	3.08	2.92	2.80	2.71	2.63	2.57	2.51	2.47	2.43	2.39	2.36	2.34	2.31	2.29	2.27	2.25	2.22	2.19	2.17	2.15	2.13						
28	5.61	4.22	3.63	3.29	3.06	2.90	2.78	2.69	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.37	2.34	2.32	2.29	2.27	2.25	2.23	2.20	2.17	2.15	2.13	2.11						
29	5.59	4.20	3.61	3.27	3.04	2.88	2.76	2.67	2.59	2.53	2.48	2.43	2.39	2.36	2.32	2.30	2.27	2.25	2.23	2.21	2.18	2.15	2.13	2.11	2.09						
30	5.57	4.18	3.59	3.25	3.03	2.87	2.75	2.65	2.57	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.31	2.28	2.26	2.23	2.21	2.20	2.16	2.14	2.11	2.09	2.07						
32	5.53	4.15	3.56	3.22	3.00	2.84	2.71	2.62	2.54	2.48	2.43	2.38	2.34	2.31	2.28	2.25	2.22	2.20	2.18	2.16	2.13	2.10	2.08	2.06	2.04						
34	5.50	4.12	3.53	3.19	2.97	2.81	2.69	2.59	2.52	2.45	2.40	2.35	2.31	2.28	2.25	2.22	2.20	2.17	2.15	2.13	2.10	2.07	2.05	2.03	2.01						
36	5.47	4.09	3.50	3.17	2.94	2.78	2.66	2.57	2.49	2.43	2.37	2.33	2.29	2.25	2.22	2.20	2.17	2.15	2.13	2.11	2.08	2.05	2.03	2.00	1.99						

ANNEXES

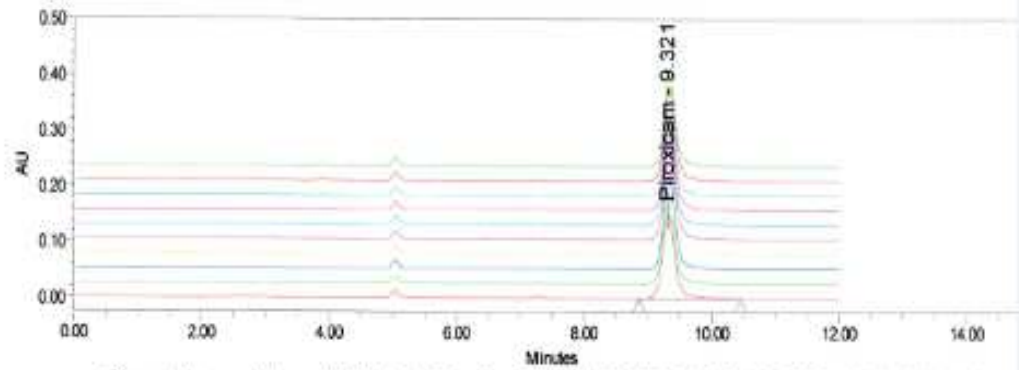
Annexe 6 : Table DE STUDENT



$\begin{matrix} P \\ \backslash \\ v \end{matrix}$	0,90	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	0,325	0,510	0,727	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,269	0,445	0,617	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,277	0,424	0,584	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,929
4	0,134	0,271	0,414	0,569	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,267	0,408	0,559	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,265	0,404	0,553	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,263	0,402	0,549	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,262	0,399	0,546	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,261	0,398	0,543	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,260	0,397	0,542	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,260	0,396	0,540	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,259	0,395	0,539	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,259	0,394	0,538	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,258	0,393	0,537	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,258	0,393	0,536	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,258	0,392	0,535	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,257	0,392	0,534	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,257	0,392	0,534	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,257	0,391	0,533	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,257	0,391	0,533	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,257	0,391	0,532	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,256	0,390	0,532	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,256	0,390	0,532	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,256	0,390	0,531	0,685	0,857	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,478	2,779	3,707
27	0,127	0,256	0,389	0,531	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,126	0,255	0,388	0,529	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
80	0,126	0,254	0,387	0,527	0,679	0,848	1,046	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,126	0,254	0,386	0,526	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
∞	0,126	0,253	0,385	0,524	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

ANNEXES

Annexe 6 : AIRES DE PIC DU PIROXICAM



- Sample Name: Prixam lot 201 pf; Date Acquired: 3/16/2015 3:43:28 AM CET; Vial: 2; Injection: 1
- Sample Name: Prixam lot 201 pf; Date Acquired: 3/16/2015 3:56:09 AM CET; Vial: 2; Injection: 2
- Sample Name: Prixam lot 202 pf; Date Acquired: 3/16/2015 4:08:53 AM CET; Vial: 3; Injection: 1
- Sample Name: Prixam lot 202 pf; Date Acquired: 3/16/2015 4:21:36 AM CET; Vial: 3; Injection: 2
- Sample Name: Prixam lot 203 pf; Date Acquired: 3/16/2015 4:34:21 AM CET; Vial: 4; Injection: 1
- Sample Name: Prixam lot 203 pf; Date Acquired: 3/16/2015 4:47:04 AM CET; Vial: 4; Injection: 2
- Sample Name: Prixam lot 204 pf; Date Acquired: 3/16/2015 4:59:49 AM CET; Vial: 5; Injection: 1
- Sample Name: Prixam lot 204 pf; Date Acquired: 3/16/2015 5:12:32 AM CET; Vial: 5; Injection: 2
- Sample Name: Prixam lot 206 pf; Date Acquired: 3/16/2015 5:25:17 AM CET; Vial: 6; Injection: 1
- Sample Name: Prixam lot 206 pf; Date Acquired: 3/16/2015 5:38:00 AM CET; Vial: 6; Injection: 2

Peak Summary with Statistics

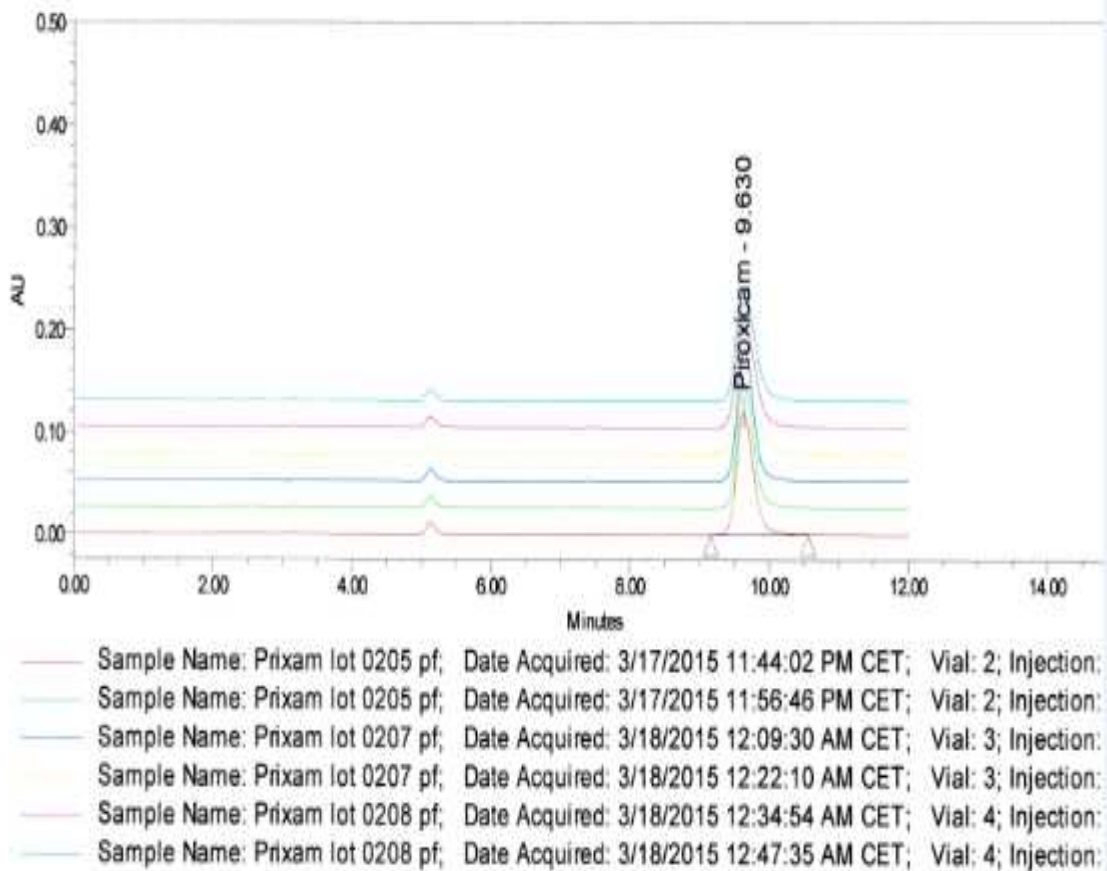
Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	Amount
1	Prixam lot 201 pf	2	2	Piroxicam	9.321	2075468	1.123288e+004	1.190644e+000	0.475
2	Prixam lot 201 pf	2	1	Piroxicam	9.321	2077408	1.127215e+004	1.191230e+000	0.475
3	Prixam lot 202 pf	3	2	Piroxicam	9.333	2255844	1.245870e+004	1.197197e+000	0.487
4	Prixam lot 202 pf	3	1	Piroxicam	9.330	2251777	1.253810e+004	1.193481e+000	0.487
5	Prixam lot 203 pf	4	1	Piroxicam	9.332	2205101	1.274498e+004	1.203330e+000	0.489
6	Prixam lot 203 pf	4	2	Piroxicam	9.329	2202775	1.288136e+004	1.212110e+000	0.488
7	Prixam lot 204 pf	5	2	Piroxicam	9.326	2221112	1.272483e+004	1.221432e+000	0.490
8	Prixam lot 204 pf	5	1	Piroxicam	9.330	2222372	1.283008e+004	1.217327e+000	0.490
9	Prixam lot 206 pf	6	1	Piroxicam	9.332	2203724	1.251277e+004	1.220365e+000	0.486
10	Prixam lot 206 pf	6	2	Piroxicam	9.332	2200284	1.238732e+004	1.221737e+000	0.488
Mean					9.329	2191584.4			
Std. Dev					0.006	63789.9			
% RSD					0.06	2.9			

Reported by User: LCQ (analytique)
Report Method: Peak Summary Report

Project Name: PRIXAM GEL 0.5
Date Printed:

ANNEXES

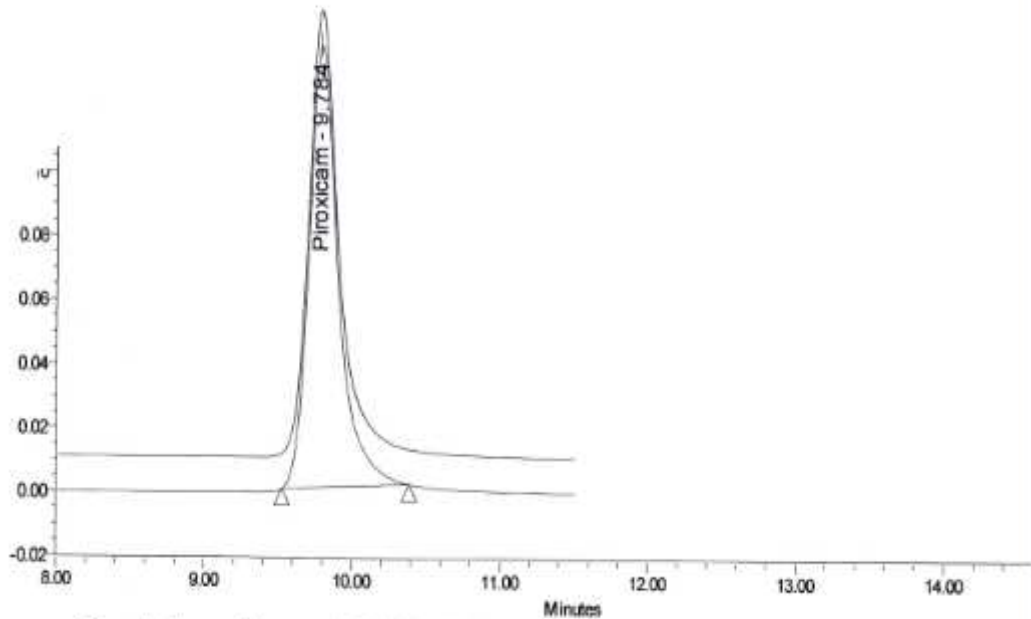


Peak Summary with Statistics

Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	Amount
1	Pirocam lot 0205 pf	2	1	Piroxicam	9.630	2089610	7.664392e+003	1.266593e+000	0.493
2	Pirocam lot 0205 pf	2	2	Piroxicam	9.637	2059930	7.668641e+003	1.257494e+000	0.491
3	Pirocam lot 0207 pf	3	1	Piroxicam	9.641	2171968	8.142932e+003	1.230254e+000	0.510
4	Pirocam lot 0207 pf	3	2	Piroxicam	9.613	2175737	5.696188e+003	1.494343e+000	0.511
5	Pirocam lot 0208 pf	4	1	Piroxicam	9.614	2138757	5.564433e+003	1.468619e+000	0.508
6	Pirocam lot 0208 pf	4	2	Piroxicam	9.616	2134284	5.389821e+003	1.450538e+000	0.507
	Mean				9.625	2125047.7			
	Std. Dev.				0.012	49714.8			

ANNEXES



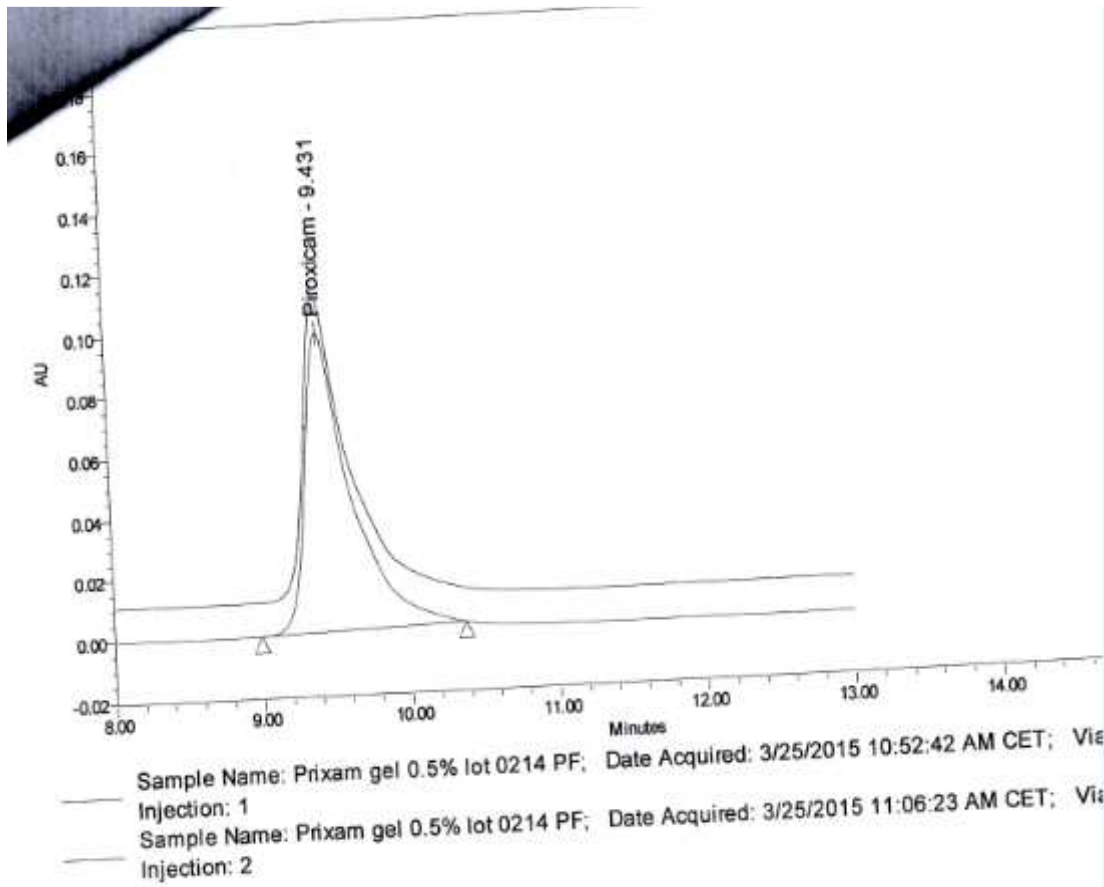
— Sample Name: Piroxicam gel 0.5% lot 0213 PF; Date Acquired: 4/6/2015 4:55:38 AM CET; Vial Injection: 1

— Sample Name: Piroxicam gel 0.5% lot 0213 PF; Date Acquired: 4/6/2015 5:07:49 AM CET; Vial Injection: 2

Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Piroxicam gel 0.5% lot 0213 PF	31	2	Piroxicam	9.783	1921576	1.331744e+004	1.374795e+000
2	Piroxicam gel 0.5% lot 0213 PF	31	1	Piroxicam	9.784	1919701	1.335666e+004	1.388415e+000
Mean					9.784	1920638.2		
Std. Dev.					0.001	1325.8		
% RSD					0.01	0.1		

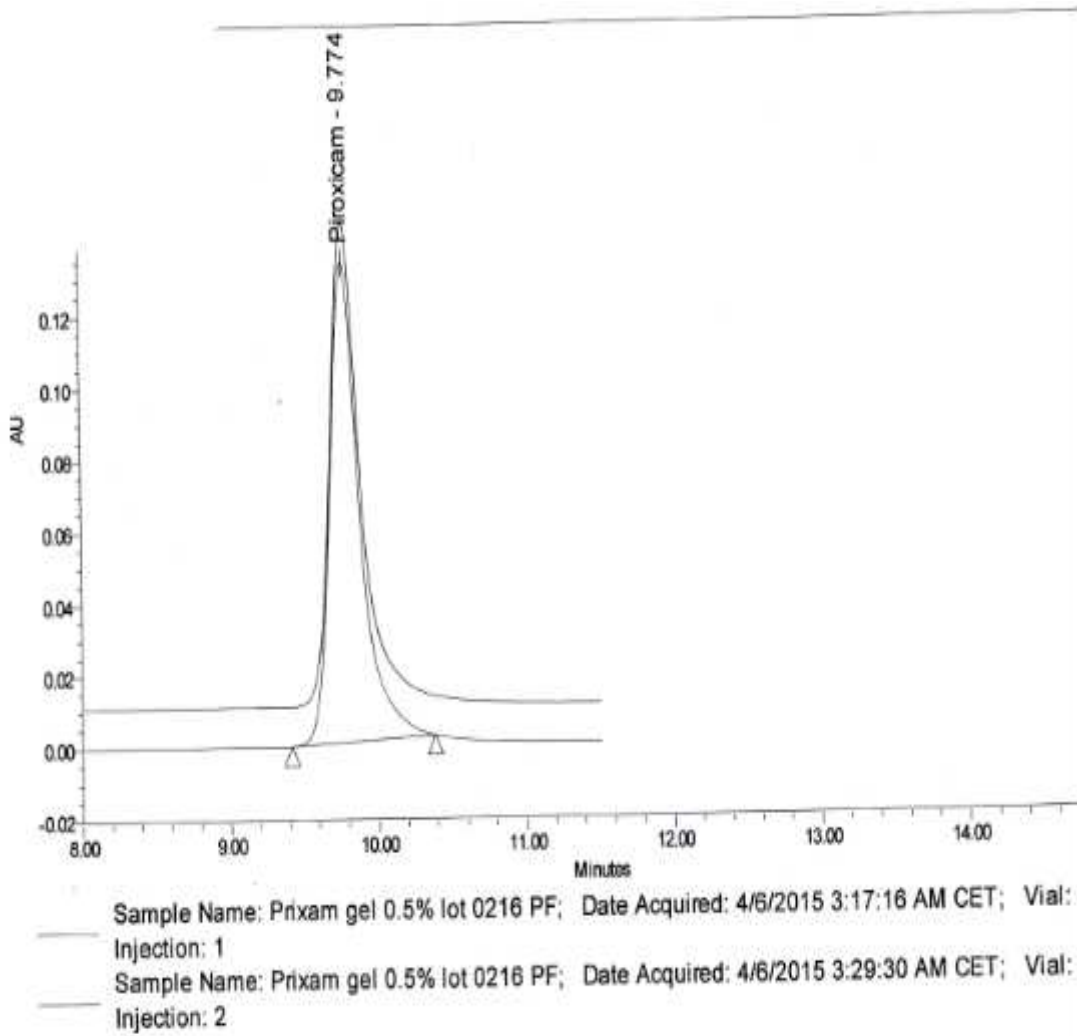
ANNEXES



Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Piroxam gel 0.5% lot 0214 PF	26	2	Piroxicam	9.422	2085441	6.525429e+003	1.895625e+000
2	Piroxam gel 0.5% lot 0214 PF	25	1	Piroxicam	9.431	2094791	6.148575e+003	1.828064e+000
Mean					9.427	2090116.0		
Std. Dev.					0.006	6611.6		
% RSD					0.06	0.3		

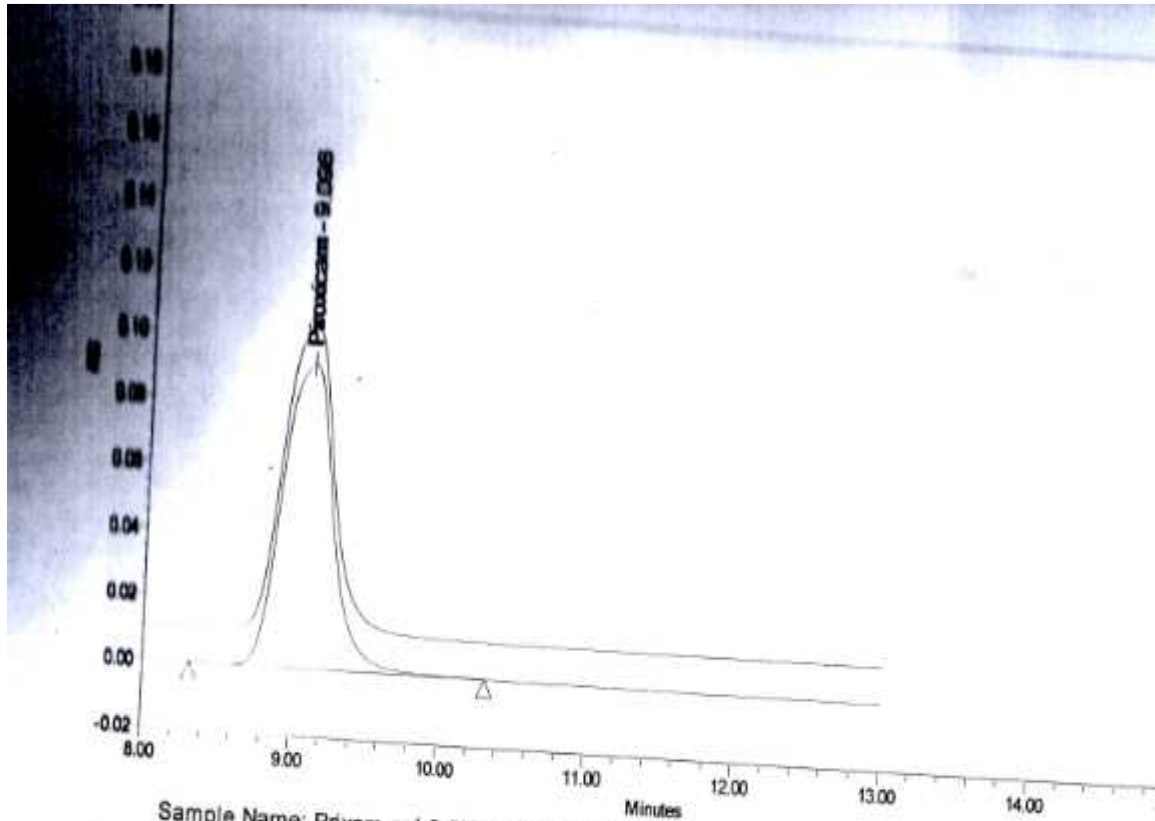
ANNEXES



Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Prixam gel 0.5% lot 0216 PF	26	2	Piroxicam	9.777	1877086	1.333393e+004	1.375627e+000
2	Prixam gel 0.5% lot 0216 PF	26	1	Piroxicam	9.774	1878517	1.327830e+004	1.381669e+000
Mean					9.775	1877801.7		
Std. Dev.					0.002	1012.1		
% RSD					0.02	0.1		

ANNEXES

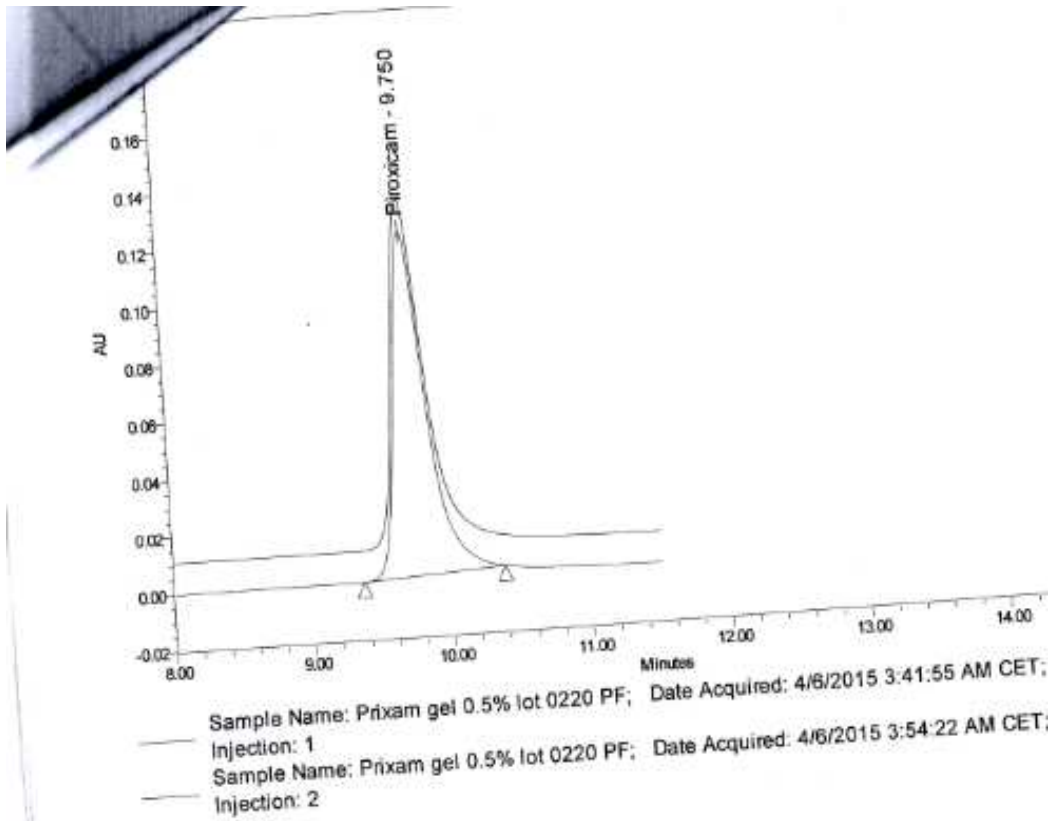


Sample Name: Piroxicam gel 0.5% lot 0217 PF; Date Acquired: 4/1/2015 11:30:21 AM CET; Vial: 27
 Injection: 1
 Sample Name: Piroxicam gel 0.5% lot 0217 PF; Date Acquired: 4/1/2015 11:30:21 AM CET; Vial: 27
 Injection: 1

Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Piroxicam gel 0.5% lot 0217 PF	27	1	Piroxicam	9.096	2197969	3.344428e+003	1.072411e+000
2	Piroxicam gel 0.5% lot 0217 PF	27	1	Piroxicam	9.096	2196323	3.345151e+003	1.071298e+000
Mean					9.096	2196646.1		
Std. Dev.					0.000	1870.8		
% RSD					0.00	0.1		

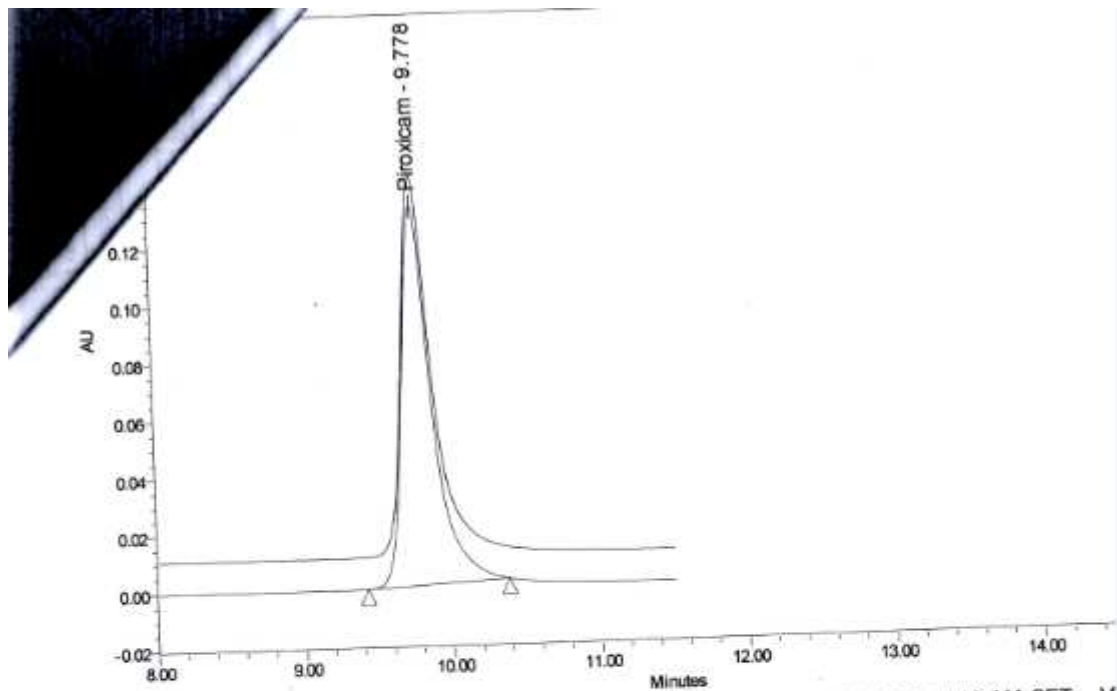
ANNEXES



Peak Summary with Statistics
Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Piroxicam gel 0.5% lot 0220 PF	28	2	Piroxicam	9.748	1972896	9.405826e+003	1.318829e+000
2	Piroxicam gel 0.5% lot 0220 PF	28	1	Piroxicam	9.750	1967703	9.401797e+003	1.317251e+000
Mean					9.749	1970279.4		
Std. Dev.					0.001	3643.7		
% RSD					0.01	0.2		

Project Name: PF



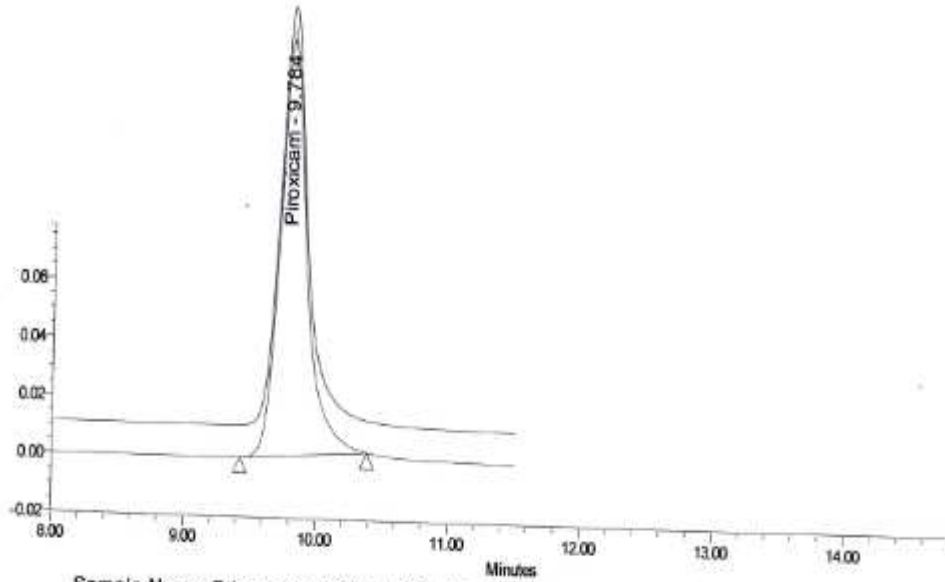
Sample Name: Prixam gel 0.5% lot 0222 PF; Date Acquired: 4/6/2015 4:31:13 AM CET; V
 Injection: 1
 Sample Name: Prixam gel 0.5% lot 0222 PF; Date Acquired: 4/6/2015 4:43:24 AM CET; V
 Injection: 2

Peak Summary with Statistics
Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Prixam gel 0.5% lot 0222 PF	30	2	Piroxicam	9.780	1853251	1.315431e+004	1.357399e+000
2	Prixam gel 0.5% lot 0222 PF	30	1	Piroxicam	9.778	1851117	1.318683e+004	1.370322e+000
Mean					9.779	1857184.1		
Std. Dev					0.001	5562.1		
% RSD					0.01	0.3		

ANNEXES

Peak Summary Rept



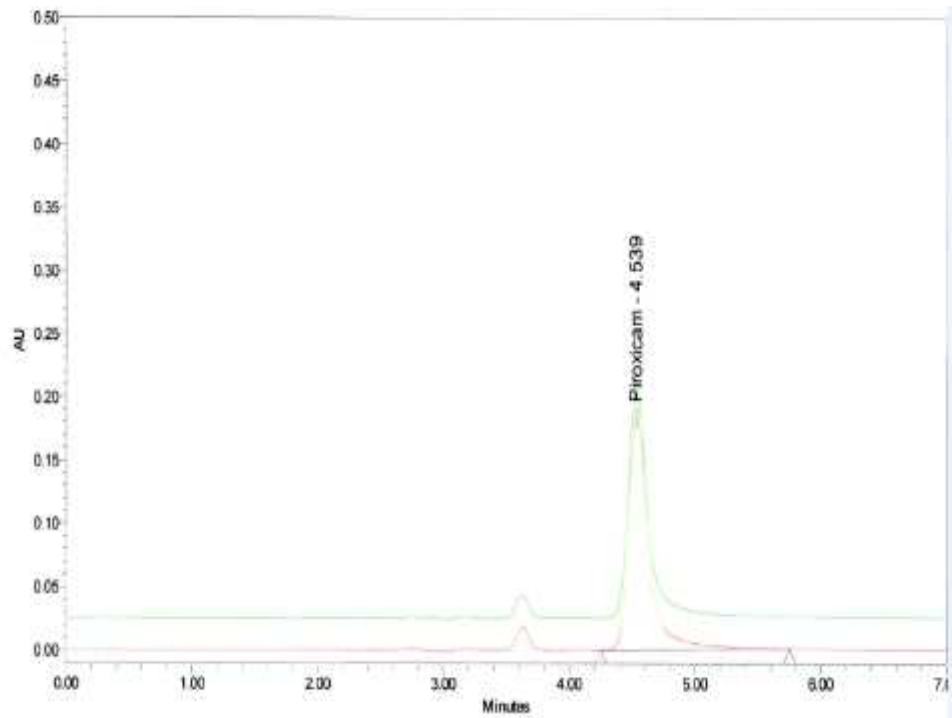
Sample Name: Pirocam gel 0.5% lot 0223 PF; Date Acquired: 4/6/2015 5:20:01 AM CET; Vial: 32
 Injection: 1

Sample Name: Pirocam gel 0.5% lot 0223 PF; Date Acquired: 4/6/2015 5:32:15 AM CET; Vial: 32
 Injection: 2

Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Pirocam gel 0.5% lot 0223 PF	32	2	Piroxicam	9.783	2018251	1.309310e+004	1.357435e+000
2	Pirocam gel 0.5% lot 0223 PF	32	1	Piroxicam	9.784	2015931	1.311152e+004	1.357014e+000
Mean					9.783	2017590.6		
Std. Dev.					0.000	2347.6		
% RSD					0.00	0.1		

ANNEXES



— Sample Name: Piroxicam gel pf 0225; Date Acquired: 4/13/2015 6:45:12 AM CET; Vial: 98; Injection: 1
 — Sample Name: Piroxicam gel pf 0225; Date Acquired: 4/13/2015 6:52:58 AM CET; Vial: 98; Injection: 2

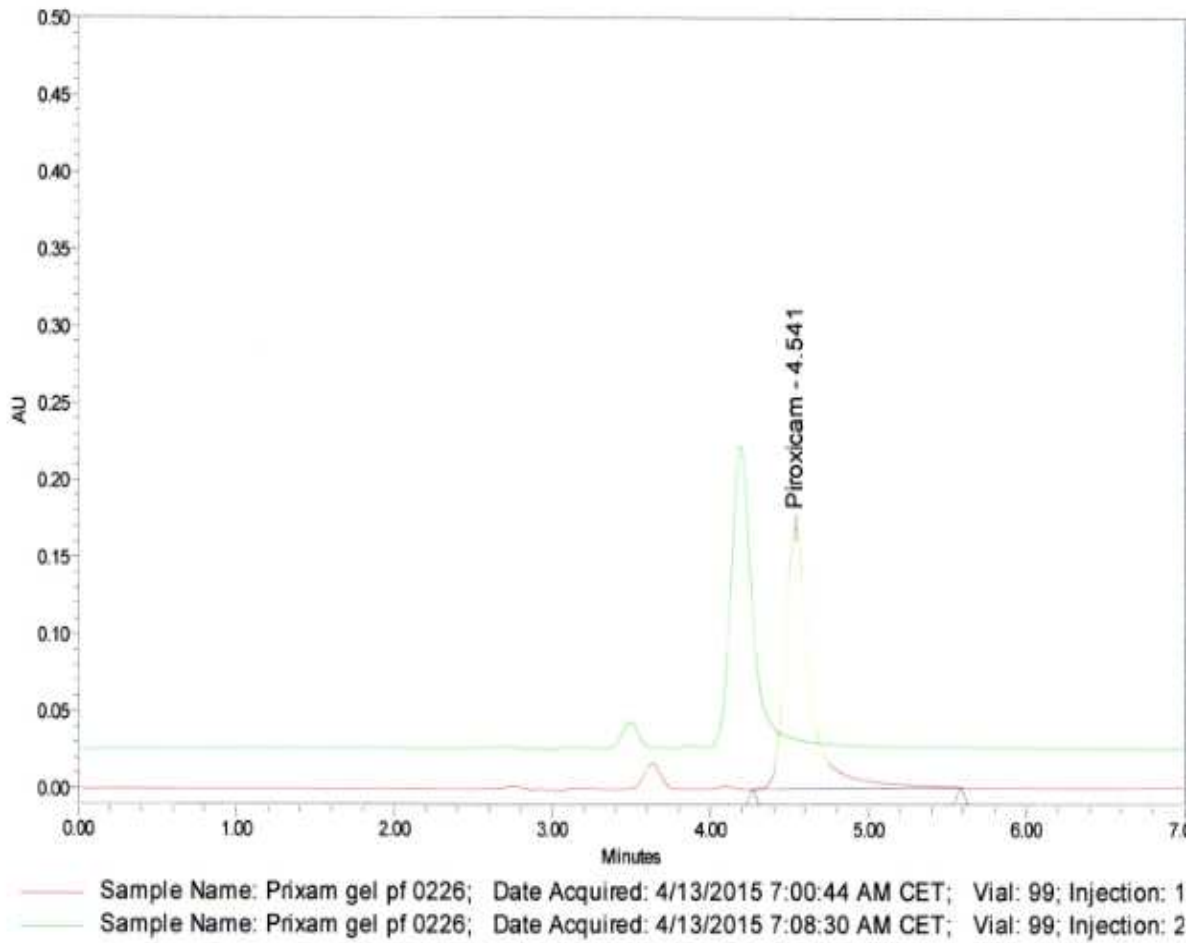
Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area
1	Piroxicam gel pf 0225	98	2	Piroxicam	4.536	2058079
2	Piroxicam gel pf 0225	98	1	Piroxicam	4.539	2062663
Mean					4.537	
Std. Dev					0.001	
% RSD					0.03	

Reported by User: System

Project Name: PIRIXAM DOSAGE

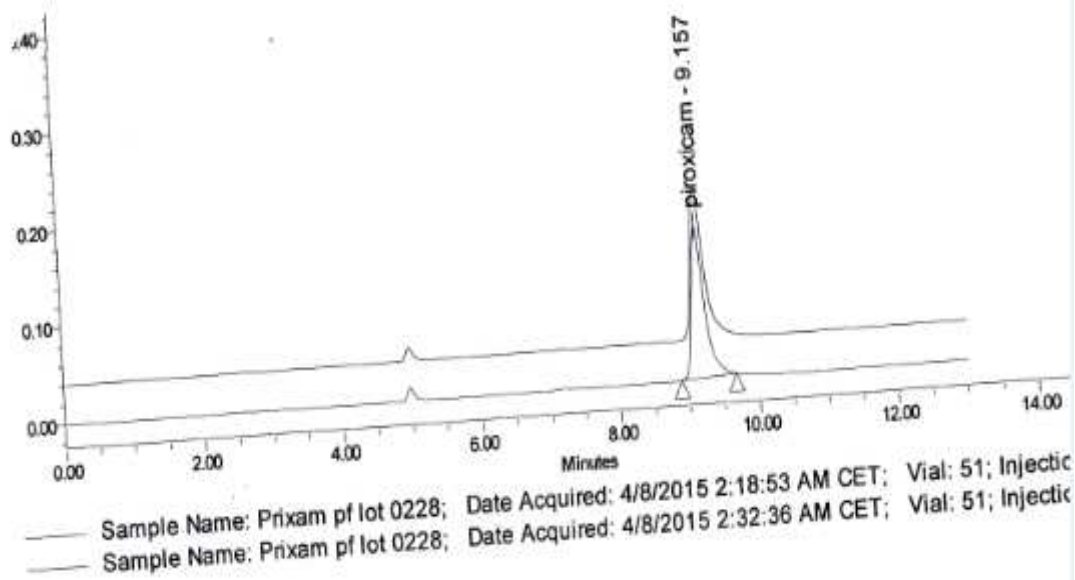
ANNEXES



Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	Units
1	Piroxim gel pf 0226	99	2	Piroxicam	4.190	1903071	%
2	Piroxim gel pf 0226	99	1	Piroxicam	4.541	1899006	%
Mean					4.366		
Std. Dev.					0.248		

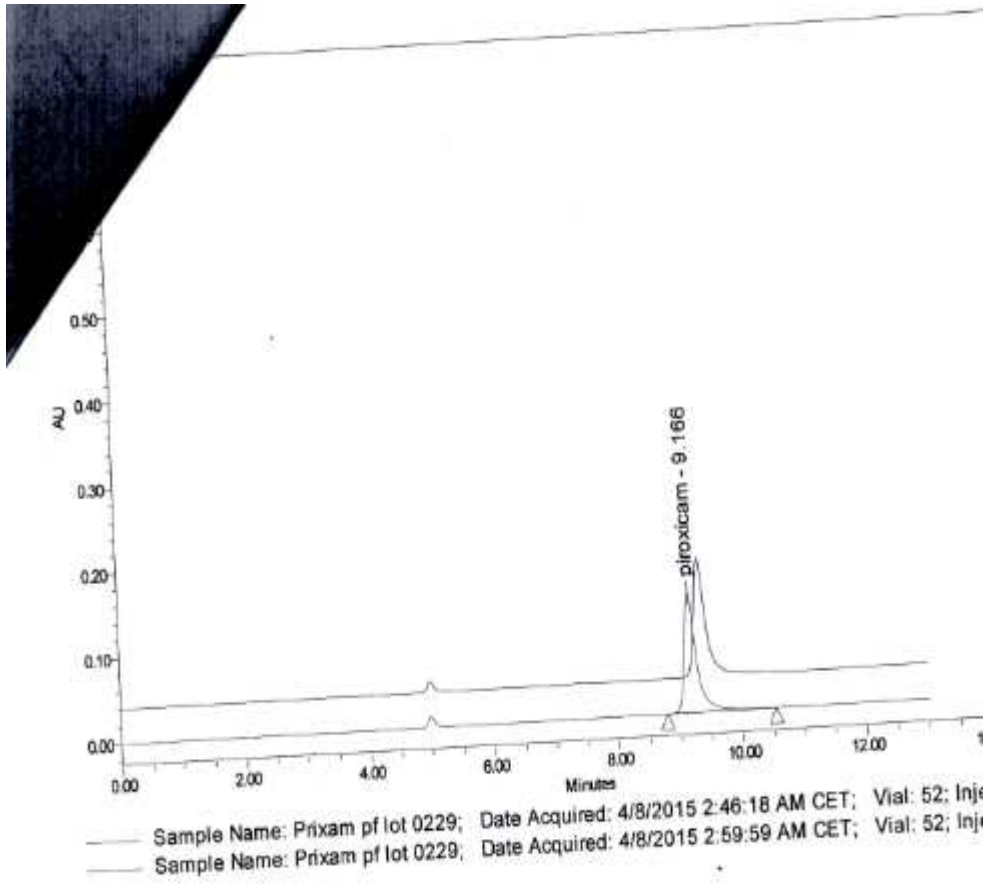
ANNEXES



Peak Summary with Statistics Name: piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Prixam pf lot 0228	51	1	piroxicam	9.157	2013978	1.390526e+004	1.401630e+000
2	Prixam pf lot 0228	51	2	piroxicam	9.166	2010736	1.385884e+004	1.385583e+000
Mean					9.161	2012366.9		
Std. Dev.					0.006	2292.7		
% RSD					0.07	0.1		

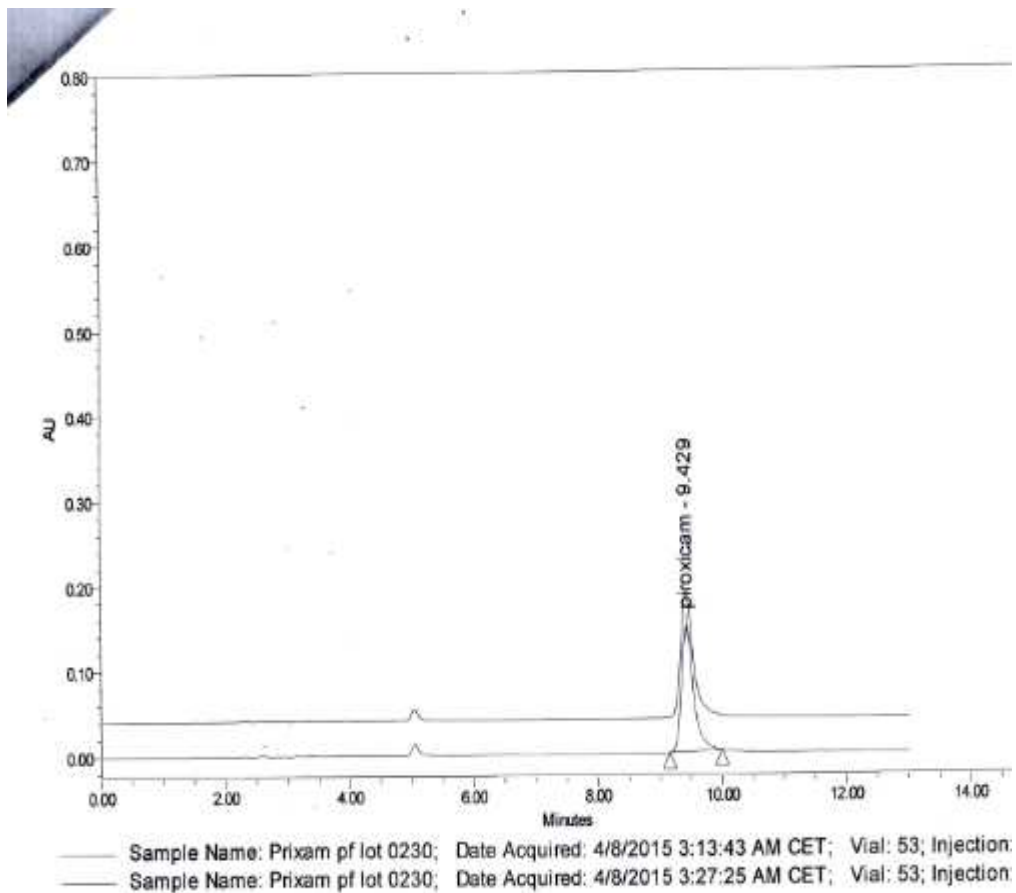
ANNEXES



Peak Summary with Statistics Name: piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Piroxam pf lot 0229	52	2	piroxicam	9.334	1937037	1.371151e+004	1.528858e+000
2	Piroxam pf lot 0229	52	1	piroxicam	9.166	1960877	1.316832e+004	1.566725e+000
Mean					9.250	1948956.6		
Std. Dev					0.115	16857.6		
% RSD					1.28	0.9		

ANNEXES

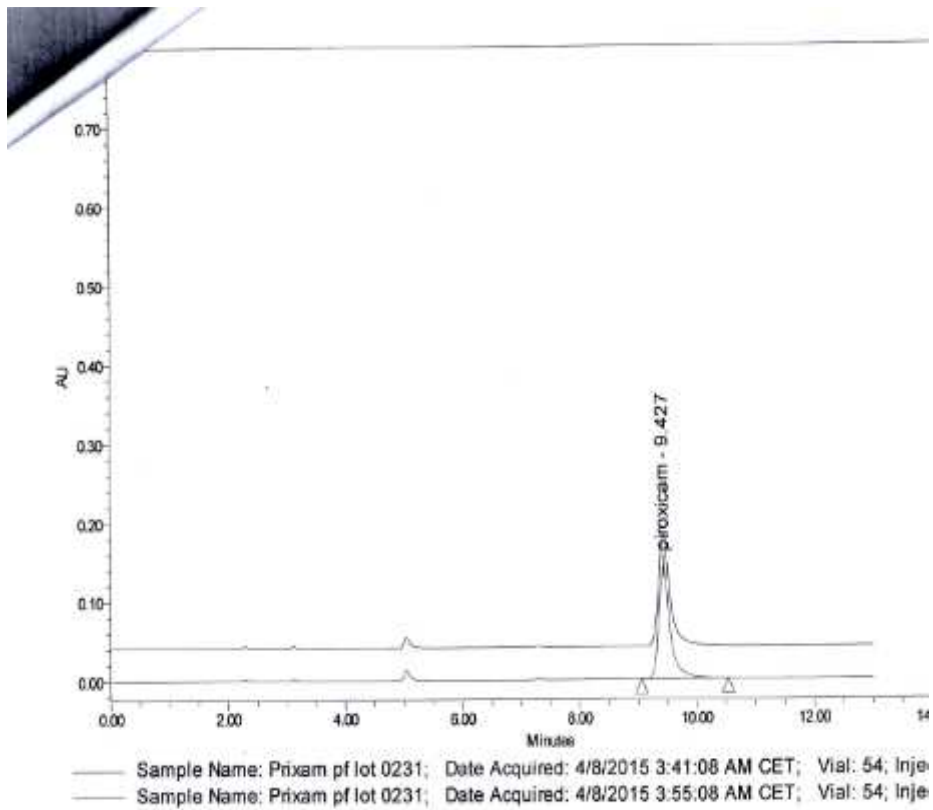


Peak Summary with Statistics

Name: piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Pirocam pf lot 0230	53	1	piroxicam	9.429	2015033	1.327543e+004	1.434599e+000
2	Pirocam pf lot 0230	53	2	piroxicam	9.422	2024038	1.322436e+004	1.425318e+000
Mean					9.425	2019985.6		
Std. Dev.					0.005	5731.2		
% RSD					0.05	0.3		

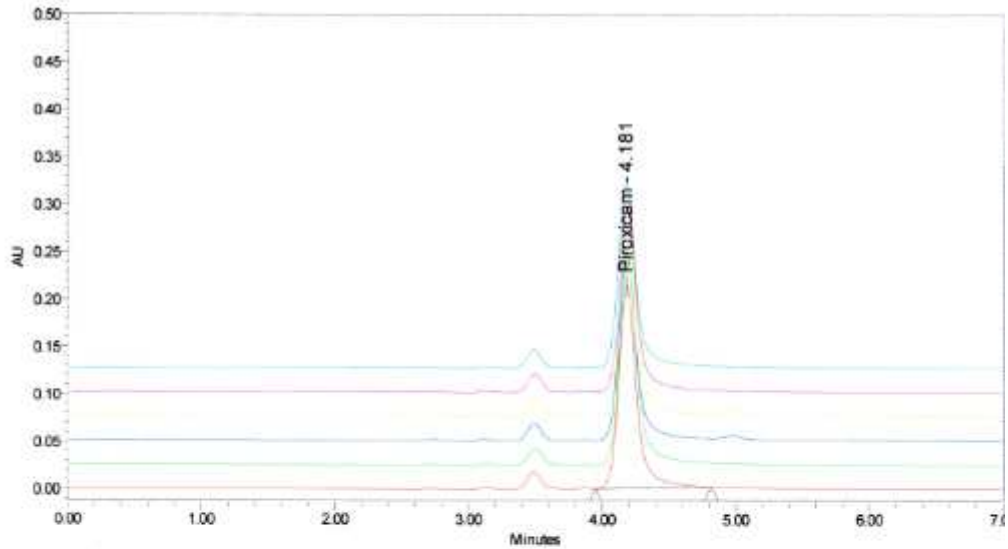
ANNEXES



Peak Summary with Statistics Name: piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	Piroxam pf lot 0231	54	2	piroxicam	9.427	1991297	1.331103e+004	1.521288e+000
2	Piroxam pf lot 0231	54	1	piroxicam	9.427	1982686	1.349636e+004	1.535535e+000
Mean					9.427	1986991.4		
Std. Dev.					0.001	6089.0		
% RSD					0.01	0.3		

ANNEXES

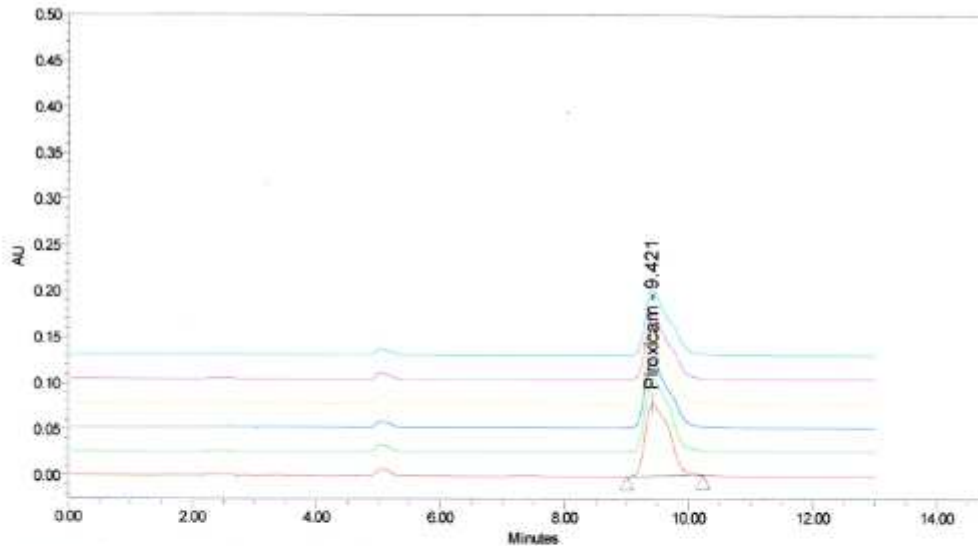


- Sample Name: Piroxicam gel pf 0232; Date Acquired: 4/13/2015 7:31:51 AM CET; Vial: 101; Injection: 1
- Sample Name: Piroxicam gel pf 0232; Date Acquired: 4/13/2015 7:39:37 AM CET; Vial: 101; Injection: 2
- Sample Name: Piroxicam gel pf 0233; Date Acquired: 4/13/2015 7:47:24 AM CET; Vial: 102; Injection: 1
- Sample Name: Piroxicam gel pf 0233; Date Acquired: 4/13/2015 7:55:09 AM CET; Vial: 102; Injection: 2
- Sample Name: Piroxicam gel pf 0235; Date Acquired: 4/13/2015 8:02:54 AM CET; Vial: 103; Injection: 1
- Sample Name: Piroxicam gel pf 0235; Date Acquired: 4/13/2015 8:10:39 AM CET; Vial: 103; Injection: 2

Peak Summary with Statistics Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	inj	Name	Retention Time (min)	Area	Units
1	Piroxicam gel pf 0232	101	2	Piroxicam	4.187	2046834	%
2	Piroxicam gel pf 0232	101	1	Piroxicam	4.181	2032735	%
3	Piroxicam gel pf 0233	102	2	Piroxicam	4.190	1968222	%
4	Piroxicam gel pf 0233	102	1	Piroxicam	4.179	1874894	%
5	Piroxicam gel pf 0235	103	1	Piroxicam	4.184	1877874	%
6	Piroxicam gel pf 0235	103	2	Piroxicam	4.175	1893429	%
Mean					4.182		
Std. Dev					0.005		
% RSD					0.13		

ANNEXES

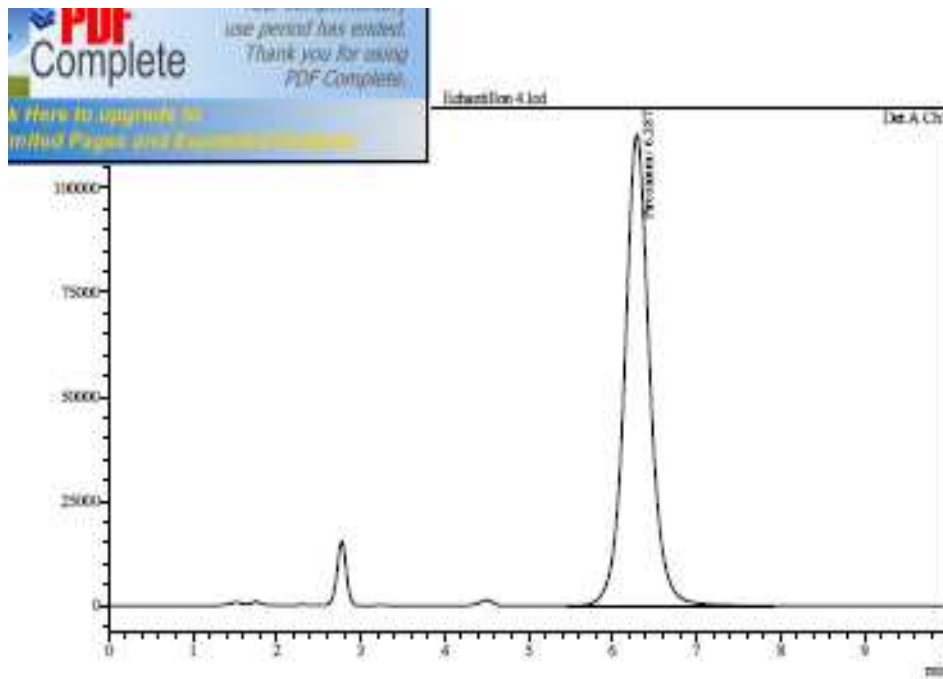
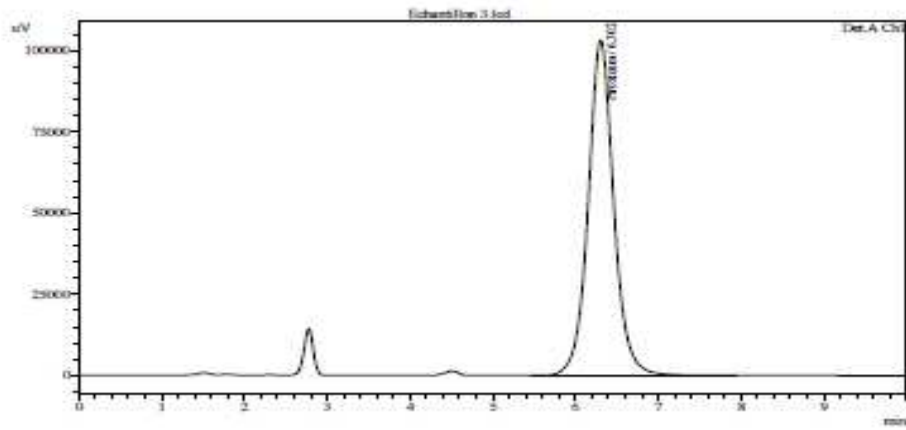


— Sample Name: Piroxam pf lot 0234; Date Acquired: 4/8/2015 5:31:08 AM CET; Vial: 57; Injection:
— Sample Name: Piroxam pf lot 0234; Date Acquired: 4/8/2015 5:44:50 AM CET; Vial: 57; Injection:
— Sample Name: Piroxam pf lot 0237; Date Acquired: 4/8/2015 6:53:21 AM CET; Vial: 60; Injection:
— Sample Name: Piroxam pf lot 0237; Date Acquired: 4/8/2015 7:07:03 AM CET; Vial: 60; Injection:
— Sample Name: Piroxam pf lot 0238; Date Acquired: 4/8/2015 7:20:45 AM CET; Vial: 61; Injection:
— Sample Name: Piroxam pf lot 0238; Date Acquired: 4/8/2015 7:34:28 AM CET; Vial: 61; Injection:

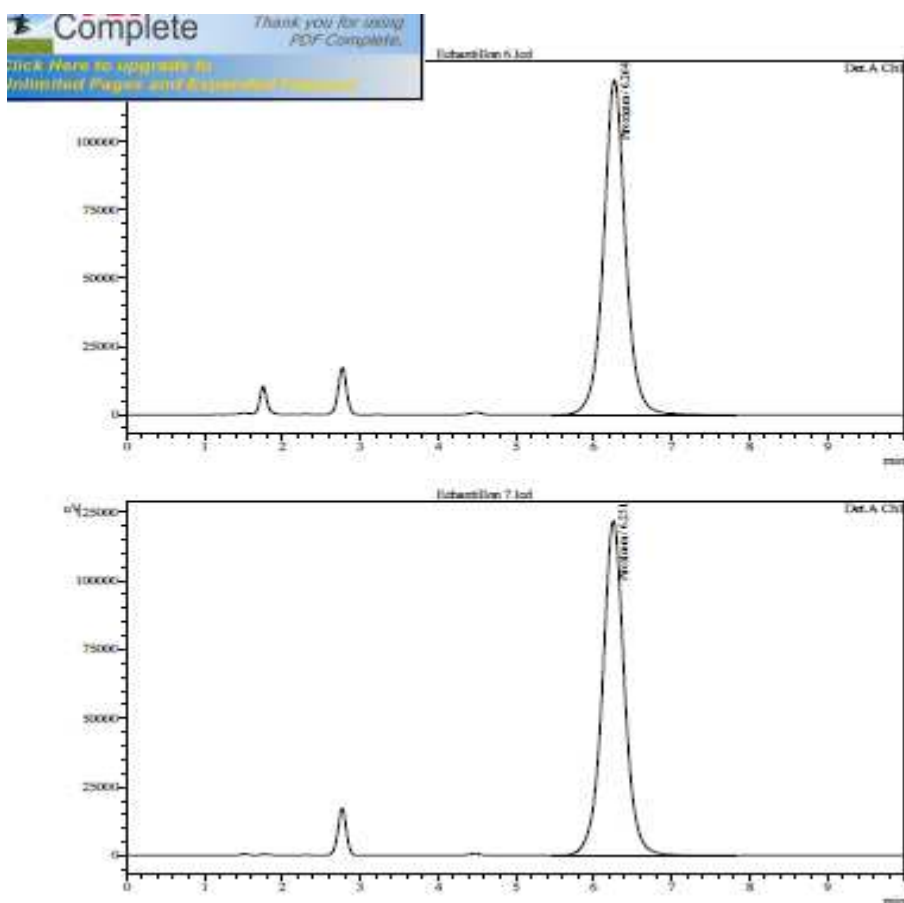
Peak Summary with Statistics
Name: Piroxicam

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	Amount
1	Piroxam pf lot 0234	57	1	Piroxicam	9.421	2083259	0.514
2	Piroxam pf lot 0234	57	2	Piroxicam	9.420	2089570	0.516
3	Piroxam pf lot 0237	60	2	Piroxicam	9.415	1967760	0.510
4	Piroxam pf lot 0237	60	1	Piroxicam	9.413	1959537	0.508
5	Piroxam pf lot 0238	61	2	Piroxicam	9.416	1852960	0.480
6	Piroxam pf lot 0238	61	1	Piroxicam	9.417	1861309	0.483
	Mean				9.417	1969084.3	
	Std. Dev				0.003	102685.6	
	% RSD				0.03	5.2	

ANNEXES



ANNEXES



Title	Sample Name	Sample ID	Piroxicam
Standard inj 1.lcd	Piroxicam	standard	2135413
Standard inj 2.lcd	Piroxicam	standard	2132540
Standard inj 3.lcd	Piroxicam	standard	2131427
Standard inj 4.lcd	Piroxicam	standard	2134556
Standard inj 5.lcd	Piroxicam	standard	2153488
Standard inj 6.lcd	Piroxicam	standard	2145742

Echantillon 3	Piroxicam	Echantillon	2221393
Echantillon 4	Piroxicam	Echantillon	2322883
Echantillon 6	Piroxicam	Echantillon	2415863
Echantillon, 7	Piroxicam	Echantillon	2403485

ANNEXES

Annexe 7 : absorbances mesurées

3-May-2015 0:47:38
 Wavelength program - Lambda 25 dimanche 3 mai 2015 10:08 Temps universel coordonné

Sample ID	Description	334.0
006:N 201 +	2.0232 g	
007:N 214 +	1.9837 g	
008:N 216 +	2.0095 g	
009:N 236 +	2.0230 g	
	1 gel pf	0.3690
T2		0.3687
T3		0.3686
201 01		0.3832
201 02		0.3827
214 01		0.3714
214 02		0.3692
216 01		0.3677
216 02		0.3674
236 01		0.3780
236 02		0.3784

Wavelength program - Lambda 25 mardi 7 avril 2015 12:43 Temps universel coordonné

Data Table

Sample ID	Description	334.0
T1		0.3683
T2		0.3692
T3		0.3691

Sample44093	0202	0.3744
Sample44094	0202	0.3723

Sample44097	0208	0.3728
Sample44098	0208	0.3720

ANNEXES

Wavelength program - Lambda 25 mardi 28 avril 2015 11:31 Temps universel coordonné

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1	Prixam gel pf	0.3685
t2		0.3686
t3		0.3685
213.01		0.3631
213.02		0.3632
223.01		0.3639
223.02		0.3628

Wavelength program - Lambda 25 mardi 7 avril 2015 14:02 Temps universel coordonné

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1		0.3632
t2		0.3635
t3		0.3638
Sample44166	Prixam lot 0217 pf	0.3568
Sample44167	Prixam lot 0217 pf	0.3566

Wavelength program - Lambda 25 lundi 20 avril 2015 11:01 Temps universel coordonné

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1		0.3750
t2		0.3749
t3		0.3753
e1	prixam 0.5 % pf lot 0220	0.3566
e2		0.3580

ANNEXES

Wavelength program - Lambda 25 lundi 20 avril 2015 11:01 Temps universel coordonné

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1		0.3750
t2		0.3749
t3		0.3753
e1	prixam 0.5% lot 0222 pf	0.3853
e2		0.3841

Wavelength program - Lambda 25 lundi 20 avril 2015 15:15 Temps universel coordonné

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1		0.3874
t2		0.3868
t3		0.3847
e3	prixam 0.5% LOT 0225 PF	0.3724
e4		0.3729

Wavelength program - Lambda 25 lundi 20 avril 2015 15:15 Temps universel coordonné

Data Table

Sample ID	Description	334.0
T1T		0.3797
T2		0.3800
T3		0.3798
E1	226	0.4078
E2		0.4123

ANNEXES

Wavelength program - Lambda 25 mardi 28 avril 2015 14:05 Temps universel coordonn

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1	Prixam pf	0.3748
t2		0.3790
t3		0.3784
0228 01		0.3601
0228 02		0.3602
0231 01		0.3842
0231 02		0.3843

Wavelength program - Lambda 25 mercredi 29 avril 2015 11:44 Temps universel coordc

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1	Prixam gel pf	0.3717
t2		0.3721
t3		0.3712
229 01		0.3873
229 02		0.3880

Wavelength program - Lambda 25 mercredi 29 avril 2015 11:27 Temps universel coordc

Data Table

Sample ID	Description	334.0
t1	Prixam gel pf	0.3719
t2		0.3712
t3		0.3709
0230 01		0.3779
0230 02		0.3786

ANNEXES

Wavelength program - Lambda 25 mercredi 22 avril 2015 10:59 Temps universel coordc

Data Table

Sample ID	Description	334.0
T1		0.3518
T2		0.3507
T3		0.3516
E1	PRIXAM 0.5% LOT 0232 PF	0.3494
E2		0.3485

007: N 220 + 1.9995 g
008: N 234 + 2.0133 g

ram - Lambda 25 mercredi 29 avril 2015 09:47 Temps universel coordc

Sample ID	Description	334.0
t1	Prixam gel pf	0.3712
t2		0.3706
t3		0.3702
234 01		0.3592
234 02		0.3592

ANNEXES

Wavelength program - Lambda 25 dimanche 3 mai 2015 14:40 Temps universel coordc

Data Table

Sample ID	Description	334.0
T1	Prixam gel pf	0.3558
T2		0.3561
T3		0.3560
233 01		0.3433
233 02		0.3407
235 01		0.3533
235 02		0.3534
237 01		0.3504
237 02		0.3486
238 01		0.3520
238 02		0.3557

Annexe 8 : LOGICIEL XLSTAT

The screenshot shows the Microsoft Excel interface with the XLSTAT add-in ribbon. The ribbon includes tabs for 'Préparation des données', 'Description des données', 'Visualisation des données', 'Analyse des données', 'Modélisation des données', 'Tests de corrélation/association', 'Tests paramétriques', 'Tests non paramétriques', and 'Tests pour les valeurs extrêmes'. The 'Tests paramétriques' tab is active, showing options for 'MX', 'CJT', 'Time', 'SIM', 'Power', 'SPC', 'DOE', and 'Life'.

The data table in the background is as follows:

N° de Lot	Teneur par HPLC	Teneur par UV	d=T(HPLC)-T(UV)
201	0,475	0,476	-0,001
202	0,487	0,504	-0,017
208	0,508	0,502	0,006
213	0,523	0,516	0,007
214	0,483	0,499	-0,016
216	0,481	0,496	-0,015
217	0,504	0,507	-0,003
220	0,518	0,476	0,042
222	0,496	0,511	-0,015
223	0,518	0,515	0,003
225	0,483	0,48	0,003
226	0,518	0,516	0,002
228	0,518	0,494	0,024
229	0,502	0,519	-0,017
230	0,52	0,507	0,013
231	0,481	0,507	-0,026
232	0,514	0,475	0,039
233	0,477	0,478	-0,001
234	0,515	0,482	0,033
235	0,483	0,494	-0,011
236	0,523	0,511	0,012

The 'Comparaison des variances de deux échantillons' dialog box is open, showing the 'Général' tab. The 'Echantillon 1' and 'Echantillon 2' fields are empty. The 'Format des données' section is set to 'Une colonne par échantillon'. The 'Test de Fisher' checkbox is checked, and the 'Moyenne' radio button is selected. The 'OK', 'Annuler', and 'Aide' buttons are visible at the bottom of the dialog.

ANNEXES

The image shows a Microsoft Excel spreadsheet with the XLSTAT add-in ribbon. The ribbon includes tabs for 'Préparation des données', 'Description des données', 'Visualisation des données', 'Analyse des données', 'Modélisation des données', 'Tests de corrélation/association', 'Tests paramétriques', 'Tests non paramétriques', and 'Tests pour les valeurs extrêmes'. A dialog box titled 'Comparaison des variances de deux échantillons' is open, showing options for 'Echantillon 1', 'Echantillon 2', 'Format des données', and various statistical tests like 'Test F de Fisher', 'Test de Levene', and 'Test de Bartlett'.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1				N° de Lot	Teneur par HPLC	Teneur par UV	d=T(HPLC)-T(UV)								
2				201	0,475	0,476	-0,001								
3				202	0,487	0,504	-0,017								
4				208	0,508	0,502	0,006								
5				213	0,523	0,516	0,007								
6				214	0,483	0,499	-0,016								
7				216	0,481	0,496	-0,015								
8				217	0,504	0,507	-0,003								
9				220	0,518	0,476	0,042								
10				222	0,496	0,511	-0,015								
11				223	0,518	0,515	0,003								
12				225	0,483	0,48	0,003								
13				226	0,518	0,516	0,002								
14				228	0,518	0,494	0,024								
15				229	0,502	0,519	-0,017								
16				230	0,52	0,507	0,013								
17				231	0,481	0,507	-0,026								
18				232	0,514	0,475	0,039								
19				233	0,477	0,478	-0,001								
20				234	0,515	0,482	0,033								
21				235	0,483	0,494	-0,011								
22				236	0,523	0,511	0,012								

ANNEXES

Classeur1 - Microsoft Excel

Accueil Insertion Mise en page Formules Données Révision Affichage Compléments XLSTAT

Préparation des données * Description des données * Visualisation des données * Analyse des données * Modélisation des données * Tests de corrélation/association * Tests paramétriques * Tests non paramétriques * Tests pour les valeurs extrêmes * Outils

129 a b x

Préparation des données * Description des données * Visualisation des données * Analyse des données * Modélisation des données * Tests de corrélation/association * Tests paramétriques * Tests non paramétriques * Tests pour les valeurs extrêmes * Découvrir, expliquer et prédire

Tests de corrélation/association * Tests paramétriques * Tests non paramétriques * Tests pour les valeurs extrêmes * Tester une hypothèse

Outils XLSTA... XLSTA... XLSTA... XLSTA... XLSTA... XLSTA... XLSTA... XLSTA... XLSTA... XLSTA...

J7

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1				N° de Lot	Teneur par HPLC	Teneur par UV	d=T(HPLC)-T(UV)								
2				201	0,475	0,476	-0,001								
3				202	0,487	0,504	-0,017								
4				208	0,508	0,502	0,006								
5				213	0,523	0,516	0,007								
6				214	0,483	0,499	-0,016								
7				216	0,481	0,496	-0,015								
8				217	0,504	0,507	-0,003								
9				220	0,518	0,476	0,042								
10				222	0,496	0,511	-0,015								
11				223	0,518	0,515	0,003								
12				225	0,483	0,48	0,003								
13				226	0,518	0,516	0,002								
14				228	0,518	0,494	0,024								
15				229	0,502	0,519	-0,017								
16				230	0,52	0,507	0,013								
17				231	0,481	0,507	-0,026								
18				232	0,514	0,475	0,039								
19				233	0,477	0,478	-0,001								
20				234	0,515	0,482	0,033								
21				235	0,483	0,494	-0,011								
22				236	0,523	0,511	0,012								

Tests t et z pour deux échantillons

Général Options Données manquantes Sorties Graphiques

Echantillon 1: Plage: Feuille Classeur

Echantillon 2: Libellés des colonnes

Format des données: Une colonne par échantillon Une colonne par variable Echantillons appariés Test z Test t de Student

OK Annuler Aide

Résumé :

Notre travail consiste en la proposition d'une méthode alternative afin de déterminer la teneur du piroxicam dans un produit fini gel 0,5%. La méthode de référence étant la chromatographie liquide haute performance citée et par spectroscopie Ultra-Violet. L'utilisation de tests d'hypothèses à savoir test de normalité de Kolmogorov-Smirnov, test d'homogénéité des variances de Fisher- Snedecor et le test de comparaison des moyennes de Student nous a permis de comparer les teneurs fournies par les deux méthodes. Ainsi, en vue des résultats obtenus, nous pouvons affirmer que la spectroscopie UV constitue une méthode alternative à l'HPLC.

Mots clés : HPLC, Spectrophotométrie UV, tests d'hypothèses, dosage, teneurs.

Abstract :

Our work aimed to find an alternative method to determine the concentration of piroxicam in a final product gel 0.5%. The method usually used is the HPLC. The process consists to measure 27 samples which contain the active substance with HPLC and spectrophotometric UV. We use the hypothetic test which are the normality one named Kolmogorov-Smirnov, test of homogeneity of variances with Fisher-Snedecor's test and the comparative test of the mean with Student's one. Those tests allowed us to compare the concentration determinate. Thus, in view of the results obtained, we can state that the UV spectroscopy is an alternative method to the HPLC

Keywords: HPLC, Spectrophotometric UV, concentration, hypothetic test, concentration.