

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

**Université Mouloud MAMMERY, Tizi-Ouzou**  
**Faculté des Sciences biologiques et Agronomiques**  
**Département des sciences biologiques**



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER ACADEMIQUE EN BIOLOGIE**  
**OPTION : ALIMENTATION HUMAINE ET QUALITE**  
**DES PRODUITS**

*Thème*

**Mise au point, Optimisation et validation d'une  
méthode d'analyse physico-chimique d'un produit  
pharmaceutique par HPLC**

**Dirigé par :**

M<sup>me</sup> SENANI. N. Maitre assistante A à l'UMMTO.  
M. BOUTMEUR. I. Pharmacien en chimie analytique

Promoteur  
Co-promoteur

**Présenté par :**

FRENDI Zakia  
SARAH Lynda

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	M <sup>me</sup> SENOUSSE-GHEZALI C.	Maitre assistante classe A	à l'UMMTO.
<b>Examinatrice :</b>	M <sup>me</sup> SEBBANE-ALMI.D.	Maitre assistante classe A	à l'UMMTO.
<b>Examineur :</b>	M <sup>me</sup> SALMI.D.	Maitre assistante classe A	à l'UMMTO.

**Promotion : 2014 / 2015**

## ❧ Remerciements ❧

*Nos remerciements vont tout premièrement au bon dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à témoigner notre profonde gratitude et remerciements les plus sincères à M<sup>me</sup>. SENANI Nassima pour avoir dirigé notre travail pour son soutien et pour le temps qu'elle a consacré au bon déroulement de ce travail.*

*Nous remercions également le président et les membres de Jury pour nous avoir fait l'immense privilège d'évaluer équitablement notre travail.*

*Nous remercions aussi tous les enseignants du département Biologie, Nous saluons également les efforts respectables qu'ils déploient dans leurs missions d'enseignement et de recherche.*

*Nous exprimons aussi notre profonde gratitude aux responsables de l'entreprise pharmaceutique **Biopharm**, pour leurs aides et conseils,  
Nos sincères remerciements vont aussi à notre encadreur M. BOUIMEUR Idir,*

*Nos vifs remerciements vont aussi à M<sup>lle</sup>. ZAATRI Sakina, et toute l'équipe du laboratoire de développement analytique, nous ne pouvons citer tous les noms, avec eux on a beaucoup appris, on vous remercie pour l'ambiance chaleureuse durant notre stage.*

*On souhaite remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

## ❧ Dédicaces ❧

*Je dédie ce travail à :*

*Mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi et à qui je ne pourrais jamais assez  
exprimer l'amour que je leur porte,*

*A mon cher mari Nordine qui m'a beaucoup soutenu,*

*A ma chère sœur Seloua*

*A mon adorable petit frère BELKACEM,*

*A tous mes proches,*

*A tous mes amis ici et ailleurs,*

*A ma copine Lynda et toute sa famille,*

*Sans oublier les étudiants de l'option Alimentation humaine promotion 2014/2015.*

*zakia*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à*

*Mon très cher père qui m'a toujours soutenu tout au long de ma vie,  
pour ses encouragements et tous l'effort qu'il a fourni depuis ma  
naissance jusqu'à aujourd'hui.*

*Ma douce et tendre mère pour ses conseils, ses sacrifices*

*Mes très chers frères : Ammar, Ali, Rachid, Younes*

*Mon fiancé Hakim et ma belle famille*

*Ma grand- mère Fatima*

*Mes cousins et cousines Tassadit, Yamina, Hayat, Nassim et sa femme*

*Lynda pour leur accueil et leur grande sympathie durant toute la*

*période de mon stage*

*Mes tantes et oncles : Rabah, Djouher, Malika, Houria*

*Ma copine Zakia et sa famille*

*Mes amies*

*Tous ceux qui me sont chers*

***Lynda.***

## TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

### Chapitre I : La validation analytique

1. Introduction .....	3
2. Définition de la validation.....	3
3. But de la validation .....	3
4. La validation analytique .....	3
5. Types de procédures analytiques à valider.....	6
5.1 Tests d'identification.....	6
5.2. Tests d'impuretés .....	6
6. Critère de la validation.....	6
6.1. Spécificité.....	6
6.2. Exactitude .....	7
6.3. Fidélité.....	7
6.3.1. Répétabilité .....	7
6.3.2. Fidélité intermédiaire .....	7
6.3.3. Reproductibilité .....	8
6.4. Limite de détection .....	8
6.5. Limite de quantification (limite de dosage) .....	8
6.6. Linéarité .....	8
6.7. Robustesse.....	8
7. Concept de qualité.....	8
8. Contrôle qualité.....	9
9. Importance du contrôle qualité .....	9
10. Importance de la traçabilité .....	9

### Chapitre II : Généralités sur les médicaments.

1. Définition du médicament.....	11
----------------------------------	----

2. Origine des médicaments .....	11
3. Composition et conditionnement des médicaments .....	11
3.1. Composition.....	11
3.1.1. Le principe actif.....	12
3.1.2. L'excipient .....	12
3.1.3. Conditionnement .....	12
4. Différents types de médicaments .....	12
4.1. Médicaments princeps .....	12
4.2. Médicament générique.....	12
4.2.1. Etapes de développement de médicament générique .....	13
4.2.1.1. Développement pharmaceutique .....	13
5. Développement du médicament .....	13
5.1. Les étapes pré cliniques.....	13
5.2. Les étapes cliniques .....	14
6. Brevet d'un médicament.....	15
7. Autorisation de mise sur le marché .....	15
8. pharmacovigilance .....	16
9. Réglementation des médicaments.....	16
9.1. Réglementation pharmaceutique.....	16
9.2. Réglementation des médicaments en Algérie .....	17
10. Référentiels du médicament.....	18
10.1. Sources institutionnelles .....	18
10.2. Bases documentaire .....	19
10.2.1. Pharmacopée .....	19
10.2.2. Conférence internationale d'harmonisation(ICH) .....	19

### **Chapitre III : Techniques chromatographiques HPLC**

1. Histoire de la chromatographie.....	20
2. Principe.....	21
2.1. Classification des techniques chromatographiques .....	21
2.2. Classification selon la nature des phases.....	21
3. Choix de la technique .....	21

4. Chromatographie liquide à haute performance .....	22
4.1. Introduction .....	22
4.2. Définition.....	22
4.3. Principe de la séparation .....	22
4.4. Avantages de la chromatographie liquide à haute performance .....	22
4.5. Intérêt de la HPLC dans le contrôle qualité en industrie pharmaceutique.....	23
4.6. Appareillage.....	23
4.6.1. Système de pompage.....	24
4.6.2. Injecteurs .....	25
4.6.3. Colonne chromatographique.....	25
4.6.3.1. Caractéristiques de la colonne .....	25
4.6.3.1.1. Nombre de plateaux théoriques N.....	25
4.6.3.1.2. Hauteur Equivalente d'un Plateau Théorique (HEPT ou H) .....	26
4.6.3.1.3. Résolution .....	26
4.6.4. Précolonne.....	26
4.6.5. Détecteurs .....	27
4.6. Phase stationnaire.....	27
4.7. Phase mobile.....	28
5. Optimisation d'une méthode HPLC .....	28
5.1. Choix de la température .....	28
5.2. Choix du débit.....	28
6. La conformité du système.....	29
7. Validation d'une méthode HPLC.....	29
8. Chromatogramme.....	30

## **Chapitre VI : Matériels et méthode**

1. Présentation de l'organisme d'accueil.....	31
2. Présentation du médicament.....	31
2.1. Caractères organoleptiques.....	31
2.2. Classe pharmaco-thérapeutique.....	31

3. Matériels .....	32
3.1. Présentation du système HPLC Alliance Waters.....	32
3.1.1. Différents compartiments de La chaine HPLC Alliance Waters.....	32
3.1.2. Condition chromatographiques et caractéristique de Colonne HPLC Alliance Waters .....	32
3.1.3. Détecteur Waters 2489 à doubles longueurs d'onde .....	32
3.1.4. Contrôle par le logiciel Empower .....	33
3.2. Autres Equipements.....	33
3.3. Matières premières et réactifs .....	33
3.3.1. Produits .....	33
4. Méthodes .....	34
4.1. Méthode de contrôle du produit fini médicament en comprimé pelliculé de 50mg .....	34
4.2. Préparation des solutions pour l'identification et le dosage moyen du principe actif.....	35
4.3. Préparation des solutions pour l'identification et le dosage des substances apparentées	35
4.4. Préparation des solutions pour la dégradation forcée du principe actif .....	36
4.5. Méthodologie de la validation .....	37
4.5.1. Conformité de système.....	38
4.5.2. Spécificité .....	38
4.5.3. Fidélité.....	39
4.5.3.1. Répétabilité.....	39
4.5.3.2. Fidélité intermédiaire .....	39
4.5.4. Exactitude .....	40
4.5.5. Stabilité des solutions.....	40
4.5.5.1. Stabilité des solutions au réfrigérateur.....	40
4.5.6. Linéarité et intervalle de mesure .....	41
4.5.6.1. L'intervalle de mesure .....	41
4.5.6.2. Linéarité sur le principe actif (standard).....	41
4.5.6.2.1. Gamme de linéarité sur le standard.....	41
4.5.6.3. Linéarité sur placebo chargé.....	42
4.5.6.3.1. Gamme de linéarité sur placebo chargé.....	42
4.5.7. Robustesse .....	42
4.5.7.1. Paramètres opératoires pour l'étude de la robustesse .....	43

4.5.8. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ) .....	44
4.5.8.1. Gamme de linéarité LOD/LOQ .....	44

## **Chapitre V : Résultats et discussion**

1. Evaluation de la conformité du système (system suitability).....	46
2. Spécificité.....	48
3. Linéarité.....	52
3.1 Linéarité sur le Principe actif .....	52
3.2. Linéarité sur placebo chargé .....	54
4. Fidélité .....	57
4.1. Répétabilité .....	57
4.2. Fidélité intermédiaire.....	57
5. Exactitude .....	59
6. Stabilité des solutions .....	59
6.1 Stabilité des solutions au réfrigérateur .....	63
7. Robustesse .....	63
8. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ).....	64
Conclusion générale.....	67
Bibliographie	
Annexes	
Résumé	

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
<b>I</b>	Caractéristiques de la colonne HPLC Alliance Waters	31
<b>II</b>	Autre équipements	32
<b>III</b>	Réactif et caractéristiques	33
<b>IV</b>	Calcul du nombre de plateaux théoriques, facteur de symétrie et de la résolution	37
<b>V</b>	Linéarité sur le standard (principe actif)	41
<b>VI</b>	Linéarité sur le placebo chargé	41
<b>VII</b>	Paramètres opératoires à considérer pour l'étude de robustesse.	42
<b>VIII</b>	Solution pour robustesse sur placebo chargé	43
<b>IX</b>	Gamme de solutions pour LOD/LOQ	44
<b>X</b>	Calcul du %RSD	46
<b>XI</b>	Calcul du nombre de plateaux théoriques, facteur de symétrie et de la résolution	47
<b>XII</b>	Linéarité sur le Principe actif	53
<b>XIII</b>	Détermination de linéarité sur le Principe actif	54
<b>XIV</b>	Gamme de linéarité sur le placebo chargé	54
<b>XV</b>	Détermination de l'équation de l'adroite du signal en fonction de la concentration de l'analyte, le coefficient de régression et le biais moyen (placebo chargé)	56
<b>XVI</b>	Répétabilité sur standard	57
<b>XVII</b>	Evaluation de la fidélité intermédiaire	58
<b>XVIII</b>	Stabilité des solutions au réfrigérateur 24h	60
<b>XIX</b>	Stabilité des solutions a T° ambiante 24h	60
<b>XX</b>	Stabilité des solutions au réfrigérateur 48h	61
<b>XXI</b>	Stabilité des solutions T° ambiante 48h	61
<b>XXII</b>	Stabilité des solutions au réfrigérateur 72h	62
<b>XXIII</b>	Stabilité des solutions a T° ambiante 72h	62
<b>XXIV</b>	Calcul de la concentration du principe actif dans la solution échantillon et du facteur de recouvrement	64
<b>XXV</b>	Calcul des effets de la robustesse	65



## Liste des figures

Figure	Titre	Page
<b>1</b>	Cycle de vie d'une méthode analytique	4
<b>2</b>	Les différentes techniques chromatographiques	20
<b>3</b>	Schéma d'une installation HPLC	24
<b>4</b>	Chromatogramme type	26
<b>5</b>	Colonne standard et précolonne de HPLC	27
<b>6</b>	Courbe de Van Deemter	29
<b>7</b>	Chromatogramme de standard 1.	46
<b>8</b>	Chromatogramme de Principe Actif	48
<b>9</b>	Chromatogramme de La phase mobile : le blanc	48
<b>10</b>	Chromatogramme : Placebo	49
<b>11</b>	Chromatogramme de la dégradation forcée : photolyse	49
<b>12</b>	Chromatogramme de la dégradation forcée : oxydative	50
<b>13</b>	Chromatogramme de la dégradation forcée : chaleur	50
<b>14</b>	Chromatogramme de la dégradation forcée : humidité	51
<b>15</b>	Chromatogrammes de la dégradation forcée : Acide	51
<b>16</b>	Chromatogramme de la dégradation forcée : alcalin	52
<b>17</b>	Droite de la régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte, (Linéarité sur PA)	53
<b>18</b>	Droite de la régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte, (Linéarité sur le Placebo chargé)	55
<b>19</b>	Droite de la régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte, (Limite de détection et quantification)	66

### **Liste des abréviations :**

**AMM:** Autorisation de Mise sur le Marché.

**ANSM :** Agence Nationale De Sécurité Du Médicament et des produits de santé.

**BPF :** Bonne Pratiques de Fabrication.

**BPL :** Bonne Pratiques de Laboratoire.

**CCM :** Chromatographie sur Couche Mince

**DPHM :** direction de la pharmacie et des médicaments

**Ech :** Echantillon

**EMA :** Agence Européenne des Médicaments. (European Medicinal Agency)

**HPLC:** Chromatographie liquide haute performance. (High Performance Liquid Chromatography).

**ICH:** Conférence Internationale d'Harmonisation.

**LNCPP:** Laboratoire Nationale de Contrôle des Produits Pharmaceutiques.

**MSPRH:** Ministère de la Santé Publique et de la Réforme Hospitalière.

**OMS:** Organisation Mondiale de La Santé.

**PA:** Principe Actif.

**Pe:** Prise d'essai.

**PAHO:** Pan American Health Organization.

**RSD:** Relative Standard Deviation.

**SFSTP:** Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques.

**Std:** Standard

**UE:** Union Européenne.

**USP:** United State Pharmacopeia

**UV:** Ultra- Violet.

La fabrication d'un produit médicamenteux est un processus qui doit répondre à des règles strictes de contrôle de la qualité, de l'autorisation de mise sur le marché, à la libération des lots.

Ainsi il faut montrer que chaque étape du processus de fabrication d'un produit médicamenteux se déroule comme prévu de même que pour les différentes méthodes d'analyses qui sont utilisées pour le contrôle de ce produit, c'est à ce niveau qu'intervient « la validation » une étude qui permet de vérifier les systèmes dans les conditions extrêmes auxquelles on peut s'attendre au cours du processus de façon à prouver que la situation reste toujours sous contrôle. Une fois que le système ou le procédé ont été validés, leur maîtrise est censée être acquise définitivement, dans la mesure où aucune modification n'intervient.

La validation se définit comme une démonstration assurée, avec un grand degré de certitude et preuves à l'appui, qu'un procédé permettra d'atteindre les résultats escomptés, de façon uniforme et continue. On réalise des études de validation pour les méthodes de contrôle analytiques, le matériel, les systèmes de ventilation, d'adduction d'eau et de vapeur dans les établissements et pour des méthodes, comme les procédés de fabrication, le nettoyage, la stérilisation, le remplissage stérile ou la lyophilisation.

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

La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères notamment la spécificité, la linéarité, la répétabilité, la fidélité intermédiaire, l'exactitude, la stabilité des solutions et la robustesse aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables. L'intérêt de la validation est de donner des garanties suffisantes que chacune des mesures qui seront réalisées en routine avec cette méthode, seront suffisamment proche de la « réalité », autrement dit que les résultats obtenus ne s'écartent que très peu du résultat attendu.

La validation intervient après les stades de recherche et développement de du principe actif d'un médicament et la mise au point analytique. Une fois la validation effectuée, le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) du médicament en question peut être constitué en vue de son utilisation courante.

Au cours de ce travail, la première partie sera consacrée à une étude bibliographique portant sur la validation et ses critères, et sur des généralités sur les médicaments suivis par une étude des techniques chromatographiques précisément la chromatographie à haute performance (HPLC).

La deuxième partie de notre travail traitera la mise au point et l'optimisation de la méthode de dosage d'un médicament en forme comprimé pelliculé par HPLC en sélectionnant les conditions chromatographiques optimales; nous procéderons ensuite à la validation de cette méthode par évaluation statistique des différents critères de la validation et l'interprétation des résultats obtenus.

## **1. Introduction**

Le principe de la validation des procédures analytiques, aujourd'hui largement répandu dans tous les domaines d'activités où des mesures sont réalisées. Le champ d'application de la validation analytique s'étend à toute procédure d'analyse utilisée dans le contrôle de la matière première, le développement galénique, le contrôle en cours de fabrication, le contrôle des produits intermédiaires et finis et les essais de stabilité de tous les produits pharmaceutiques. Dans le domaine pharmaceutique, son exigence est avant tout une pratique réglementaire. La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables (ANONYME 1, 1998).

## **2. Définition de la validation**

La validation d'une méthode est la procédure par laquelle on démontre, preuves expérimentales à l'appui, que les performances de la méthode permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée. Il existe plusieurs degrés de validation ; suivant la nature de la méthode, ce à quoi elle est destinée (VIAL, 2006).

## **3. But de la validation**

La validation des méthodes analytiques a pour principal objectif de s'assurer qu'une méthode analytique donnée donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse. Il faut donc définir correctement à la fois les conditions dans lesquelles la méthode sera utilisée et le but dans lequel elle sera employée (ANONYME 2, 2013).

Ces principes s'appliquent à toutes les méthodes utilisées par un fabricant de produits pharmaceutiques, qu'elles soient ou non décrites dans une pharmacopée (ANONYME 1, 1998).

## **4. La validation analytique**

La méthode d'analyse se définit comme étant la manière dont une analyse est réalisée. Chaque étape doit être décrite en détail. Il faut décrire notamment, mais non exclusivement, la préparation de l'échantillon, de l'étalon de référence et des réactifs, l'utilisation des appareils, la production de la courbe d'étalonnage, l'application des formules de calcul, etc. (ANONYME3, 2005).

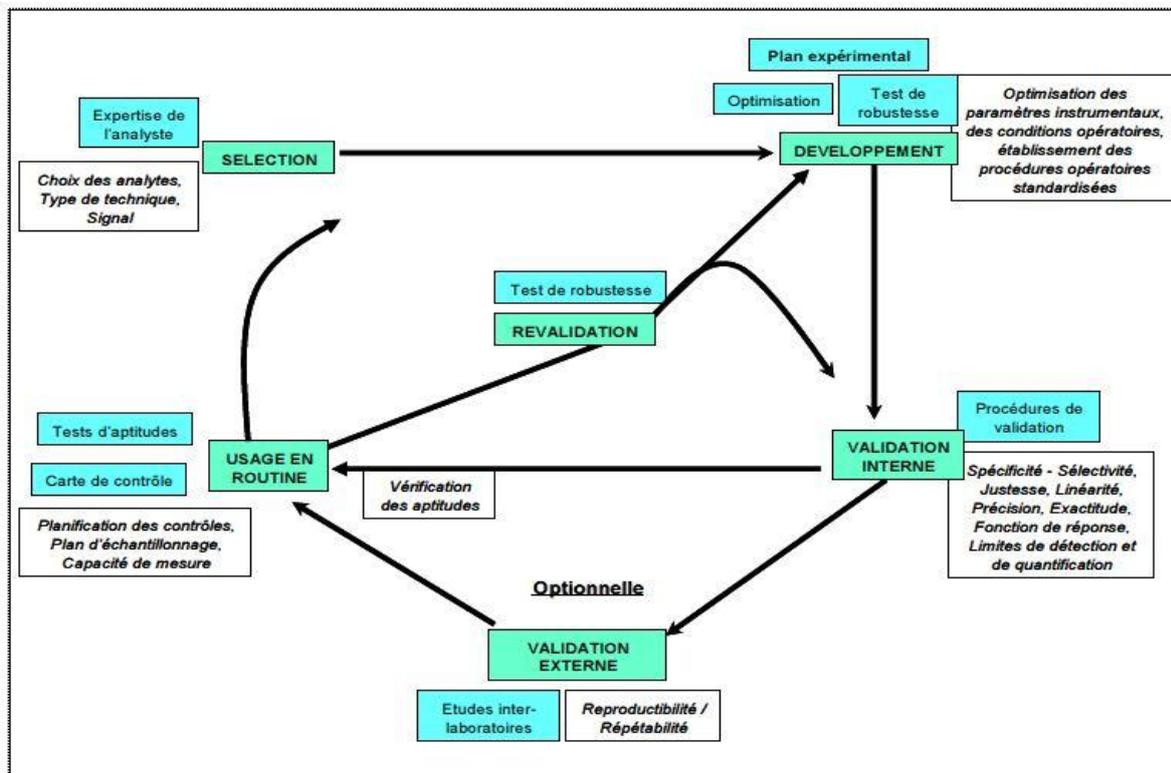
La démarche à suivre ne se limite pas à la production de procédures dont le suivi assure la traçabilité totale des résultats. Elle intègre également la qualification de l'appareillage utilisé,

son suivi et surtout la validation de la méthode de dosage qui permet de prouver que cette méthode répond bien aux besoins pour lesquels elle a été développée, avec la possibilité de la transférer dans un autre laboratoire. Ceci impose une caractérisation précise des critères de la méthode : Sélectivité, spécificité, exactitude, répétabilité, reproductibilité, linéarité, seuils de quantification et de détection, et robustesse. (NICOLAS, 2004).

Les méthodes doivent être validées ou revalidées :

- Avant leur utilisation en routine,
- Quand le Contrôle Qualité indique qu'une méthode établie change avec le temps,
- Pour démontrer l'équivalence entre deux méthodes (par exemple, une nouvelle méthode et une méthode standard) (RAYNAND, 2011).
- En cas de modifications des conditions de validation de méthodes (par exemple, un instrument avec des caractéristiques différentes ou des échantillons avec une matrice différente).

Une méthode analytique est un moyen visant à exprimer concrètement un besoin bien exprimé, ou encore c'est la réponse matérialisée à un problème donné, comme par exemple dans le cadre de notre travail la présence d'impuretés (chirales) dans un médicament, néfastes pour la santé et dont il faudra déterminer la teneur.



**Figure 1** : Cycle de vie d'une méthode analytique (FEINBERG et al., 2004)

Les étapes sont reprises dans un rectangle vert (gras), les tests associés dans un rectangle bleu et les critères pour l'évaluation dans un rectangle non coloré (italique).

L'objectif d'une méthode analytique peut se résumer en sa capacité à quantifier chacune des quantités inconnues présentes dans un échantillon. La mise en œuvre d'une méthode de dosage peut se décomposer en quatre grandes phases généralement successives telles qu'illustrées dans la (Figure 1) (FEINBERG *et al*, 2004).

- Une phase de sélection où des objectifs et des conditions opératoires initiales sont définis ;
- Une phase de Développement, avec ou sans optimisation au moyen de plans d'expériences ;
- Une phase de Validation (Validation Interne/Externe) précédée, selon les cas, d'une phase de prévalidation;
- Une phase d'application en routine (Usage en routine), incluant le plus souvent une validation en routine et parfois une validation partielle ou une revalidation.

## 5. Types de procédures analytiques à valider

Parmi les procédures analytiques les plus courantes à valider selon (ANONYME3, 2005).

Nous citons:

- Les tests d'identification ;
- Les tests quantitatifs pour la teneur en impuretés ;
- Les tests limites pour le contrôle des impuretés ;
- Les tests quantitatifs du principe actif dans des échantillons de substance médicamenteuse ou produit pharmaceutique ou d'autre composant(s) choisi(s) dans le produit pharmaceutique.

### 5.1. Tests d'identification

Les tests d'identification sont effectués pour garantir l'identité d'un analyte dans un échantillon. Ceci est normalement réalisé par comparaison d'une propriété de l'échantillon (Exemple : le spectre, le comportement chromatographique, une réactivité chimique, etc.) à celle d'un standard (étalon) de référence (ANONYME 3, 2005).

### 5.2. Tests d'impuretés

Les tests d'impuretés peuvent être soit des tests quantitatifs ou test limite d'impureté, dans un échantillon. Chaque test reflète les caractéristiques de pureté de l'échantillon.

Différentes Caractéristiques de validation sont nécessaires pour un test quantitatif que pour un test limite (ANONYME 3, 2005).

## 6. Critères de la validation

Les objectifs de la procédure analytiques doivent être clairement entendus c'est pour cela que les caractéristiques de validation doivent être évaluées selon le type de la méthode analytique à valider. Parmi ces critères on trouve la spécificité, l'exactitude, la fidélité (répétabilité, la précision intermédiaire et reproductibilité), limite de détection, limite de quantification (limite de dosage), la linéarité, la gamme et enfin la robustesse (TIABI.A et TIRES.L, 2014).

### 6.1. Spécificité

La spécificité est la propriété qui fait qu'une méthode d'analyse rend compte sans ambiguïté de la substance analysée en présence d'autres composantes normalement présentes. Ces dernières peuvent inclure des impuretés, des produits de dégradation, la matrice, etc. Si une méthode d'analyse est insuffisamment spécifique, cette déficience peut être compensée par la spécificité de l'une ou de plusieurs autres analyses complémentaires. Cette définition renvoie à plusieurs aspects :

- **Identification:** Il s'agit de vérifier l'identité de la substance analysée ;
- **Pureté :** Il s'agit de vérifier si les analyses permettent de déterminer avec exactitude la Teneur en impuretés de la substance analysée (recherche des substances apparentées, métaux lourds, résidus de solvants, etc.) ;
- **Dosage (teneur ou activité):** Il s'agit d'obtenir un résultat indiquant exactement la Concentration ou l'activité de la substance analysée (teneur) (GENEVE, 1998).

### 6.2. Exactitude

L'exactitude d'une méthode analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie ou d'une valeur de référence acceptée, et la valeur trouvée. Ce qui est parfois appelé la justesse. (BOUKLOZE, A et *al.* 2006).

### 6.3. Fidélité

La précision d'une méthode analytique exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures obtenues à partir d'échantillonnage multiple du même échantillon homogène dans les conditions prescrites. La Précision peut être considérée à trois niveaux: répétabilité, précision intermédiaire et reproductibilité. Elle doit être étudiée en

utilisant des échantillons homogènes, et authentiques. Toutefois, si ce n'est pas possible d'obtenir un échantillon homogène, la précision peut être évaluée en utilisant des échantillons préparés artificiellement ou une solution d'échantillon.

La précision d'une méthode analytique est généralement exprimée comme une variance, écart-type ou un coefficient de variation d'une série de mesure (BOUKLOZE, *et al.* 2006)

### **6.3.1. Répétabilité**

La répétabilité exprime la précision de l'analyse dans les mêmes conditions opératoires après un court intervalle de temps. La répétabilité est également appelée intra dosage de précision (GENEVE, 1998).

### **6.3.2. Fidélité intermédiaire**

La précision intermédiaire correspond aux variations survenant au sein du même laboratoire en variant les jours d'analyse, les analystes et les équipements, etc. (GENEVE, 1998).

### **6.3.3. Reproductibilité**

La reproductibilité exprime la précision entre différents laboratoires visant généralement la normalisation de la méthodologie (GENEVE, 1998).

## **6.4. Limite de détection**

La limite de détection d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité d'analyte dans un échantillon que la méthode permet de détecter, mais pas nécessairement quantifiée en tant que valeur exacte. (BOUKLOZE, *et al.* 2006)

## **6.5. Limite de quantification (limite de dosage)**

La limite de dosage d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude. La limite de dosage est un paramètre des analyses quantitatives des composés présents en faibles quantités dans les matrices d'échantillon ; elle est plus particulièrement utilisée dans le dosage des impuretés et (ou) des produits de dégradation. (BOUKLOZE, *et al.* 2006)

## **6.6. Linéarité**

La linéarité d'une méthode d'analyse est sa capacité dans une gamme donnée d'obtenir des résultats qui sont directement proportionnels à la concentration (quantité) de l'analyte dans l'échantillon (TIABI. A et TIRES.L, 2014).

### **6.7. Robustesse**

La robustesse d'une méthode d'analyse est une mesure de ses capacités de rester insensible à de petites variations apportées délibérément aux paramètres de la méthode ; elle fournit indication de la fiabilité de la méthode aux conditions normales d'utilisation (ANONYME 2, 2013).

### **7. Concept de qualité**

La qualité est un ensemble de propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confère l'aptitude à satisfaire les besoins exprimés ou implicites par l'utilisateur comme définie par AFNOR (CLEVE, 2009). Donc, un médicament de qualité est un médicament dont les caractères et la nature doivent satisfaire les besoins des utilisateurs, c'est -à-dire ayant les critères essentiels suivants :

Efficacité : effet thérapeutique correct ;

Sécurité : administration avec un maximum de sécurité ;

Innocuité : administration avec le minimum d'effets secondaires ;

Qualité : bon aspect et conditionnement convenable, bonne conservation, emploi facile, etc. (ANONYME 4, 1995).

### **8. Contrôle qualité**

Le contrôle qualité fait partie des bonnes pratiques de fabrication ; il concerne l'échantillonnage, les spécifications, le contrôle, ainsi que les procédures d'organisation de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires appropriées ont été réellement effectuées et que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, la vente ou l'approvisionnement sans que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante (ANONYME 4, 1995).

### **9. Importance du contrôle qualité**

Selon l'OMS, la circulation de médicament de mauvaise qualité, mal fabriqués ou contrefaits, représente une menace permanente pour la santé publique. Ce trafic semble s'être aggravé au cours des dernières années et touche plus particulièrement les pays en développement. (ANONYME 4, 1993).

L'intérêt du contrôle qualité est de lutter pour garantir l'innocuité et la sécurité des médicaments ainsi prévenir les risques sanitaires.

Les moyens de ce contrôle peuvent être internes, tels que le suivi des anomalies, des validations, les auto-inspections et les audits de qualité (HAMMOUMI, 2014), ou peuvent être

basés sur des informations externes telles que le suivi des réclamations, des retours, et la traçabilité.

➤ **L'auto-inspection** : correspond à un examen détaillé et périodique des conditions et des procédures de travail en usage, par une équipe du lieu de production en vue de vérifier l'application des bonnes pratiques de fabrication et proposer aux responsables d'éventuelles mesures de correction (PRADEAU, 1992).

➤ **L'audit de qualité** : il s'agit d'une évaluation de tout ou partie du système d'assurance qualité mis en place. Il est réalisé par une spécialité ou une équipe désignée à cet effet. Il est effectué si besoin au près de fournisseurs et sous-traitants. L'audit peut porter sur un produit, sur un « process », ou sur une procédure (PRADEAU, 1992).

### **10. L'importance de la traçabilité**

La traçabilité est une procédure visant à suivre automatiquement un produit ou un service depuis sa naissance jusqu'à sa valorisation finale. Son objectif premier est de pouvoir identifier un produit ou un lot de produit afin de pouvoir le retirer très rapidement et avec un maximum de sécurité en cas de non-conformité, de dosage.

La traçabilité offre également l'avantage de pouvoir intervenir en amont de la distribution en permettant par exemple de contrôler la qualité des produits pharmaceutiques depuis l'origine de ses matières premières (RAVELONA, 2003 ; ANONYME 5, 1995). En résumé, la traçabilité permet d'améliorer la qualité, le service et l'efficacité globale d'une entreprise.

## 1. Définition du médicament

Le médicament est défini selon l'article L. 5111-1 du Code de la Santé Publique(2007) : « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique.

## 2. Origine des médicaments

- **Origine végétale** : la phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public soucieux de traitement naturel. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent
- **Origine animale** : leur emploi est aussi ancien que celui des plantes, on utilise actuellement en thérapeutique des organes, glandes ou tissus humains ou animaux (sang et plasma humain) et des principes actifs obtenus par extraction (des hormones et des enzymes).
- **Origine minérale** : certains minéraux qu'ils soient des produits naturels et purifiés ou obtenus par des réactions de chimie minérale sont encore employés en qualité de principe actif ou d'excipients de médicaments (eau, talc, bicarbonate de sodium...). (BOUKLI, 2011).
- **Origine microbiologique** : c'est le cas des vaccins obtenus à partir des bactéries ou de virus atténués ou tués, et les antibiotiques découverts fondamentalement dans le traitement des maladies infectieuses.
- **Origine synthétique** : la synthèse de molécules complexes nécessite souvent d'importantes études de recherche et de mise au point par étapes successives pour aboutir à la structure désirée. Il est possible dans certains cas de partir de molécules déjà connues, d'origine naturelle ou synthétique, les transformer pour aboutir à de nouvelles molécules (hémi-synthèse).
- **Origine biotechnologique** : elle s'agit de méthodes de synthèse très élaborées faisant intervenir pour l'essentiel des techniques de génie génétique. (TALBERT et al., 2012).

## 3. Composition et conditionnement des médicaments

### 3.1. Composition

Le médicament est composé de deux parties : le contenu (principe actif et excipients) et le contenant (conditionnement).

### 3.1.1. Le principe actif

Est la substance agissante de médicament c'est lui qui va produire l'effet thérapeutique attendu. Son dosage est réalisé en fonction de la puissance de son action, de son devenir dans l'organisme et de profil du patient.

### 3.1.2. L'excipient

Est le support (ou le véhicule ou adjuvant) du principe actif. Il a un rôle non thérapeutique et inactif :

- Facilite l'administration, la conservation et la mise en forme ;
- Permet d'exercer l'action thérapeutique dans les meilleures conditions et d'accélérer ou ralentir la résorption d'un médicament ;
- Masque le goût et protège contre l'acidité gastrique.

L'une des qualités principales recherchées pour un excipient est son inertie vis-à-vis des principes actifs, des matériaux de conditionnement et de l'organisme. Néanmoins ; un adjuvant peut modifier d'une façon importante l'activité d'un principe actif d'où ; très souvent la nécessité de refaire après un changement d'excipient des essais cliniques, des études biodisponibilité, stabilité...etc. (BOUKLI, 2011).

## 3.2. Conditionnement

- **Conditionnement primaire** : indispensable pour le médicament, ayant un rôle de protection (isole et conserve le médicament) et un rôle fonctionnel (facilite l'utilisation du médicament par le malade).
- **Conditionnement secondaire** : permet la manipulation, le transport de médicament ainsi que son identification et information pour le malade (assure la sécurité (TIABI.A et TIRES.L, 2014).

## ▪ 4. Différents types de médicaments

### 4.1. Médicaments princeps

Un médicament princeps ou médicament d'origine est un médicament mis au point par un laboratoire pharmaceutique qui en garde l'exclusivité jusqu'à expiration du brevet. A l'expiration du brevet, une copie du produit original peut ensuite être développée et commercialisée par d'autres laboratoires : c'est le médicament générique.

### 4.2. Médicament générique

Le code français de la santé publique définit le médicament générique comme suit :  
« On entend par spécialité générique d'une autre spécialité, une spécialité qui a la même composition qualitative et quantitative en principe actif, la même forme pharmaceutique et

dont la bioéquivalence avec l'autre spécialité a été démontré par des études appropriées de biodisponibilité. »(ZOUANT, 2013).

En Algérie, le décret exécutif n°92-284 de journal officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (JORADP) de 1992 définit dans son article 4 le médicament générique comme toute spécialité dont la composition est essentiellement similaire à un produit pharmaceutique original, lorsqu'il a la même composition qualitative et quantitative en principe (s) actif (s), qu'il est présenté sous la même forme pharmaceutique et que, lorsque nécessaire, la bioéquivalence avec le premier produit a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité.

#### **4.2.1. Etapes de développement du médicament générique**

##### **4.2.1.1. Développement pharmaceutique**

Consiste, à partir d'une molécule généricable sélectionnée, à mettre au point une forme galénique stable (comprimés, gélules, sirops,...) et bioéquivalente au médicament princeps.

- **Bioéquivalence** : Elle démontre par des études comparatives dites de biodisponibilité que le passage de principe actif dans l'organisme se fait de la même façon pour le référent et son générique. La démonstration de la bioéquivalence est obligatoire avant tout mise sur le marché d'un médicament générique. (BOUKLI, 2011).
- **Contrôle qualité** : Est l'action de vérifier que les caractéristiques du produit sont conformes aux spécifications définies dans le dossier d'enregistrement du médicament. (TIABI.A et TIRES.L, 2014).

### **5. Développement du médicament**

Avant d'être considéré « Médicament » et obtenir l'Autorisation de Mise sur le marché (A.M.M), un produit subit deux grandes étapes d'études, précliniques et cliniques.

#### **5.1. Les étapes pré cliniques**

Ensemble des étapes avant la première administration à l'Homme.

- **Découverte d'un médicament** : La découverte d'une nouvelle molécule active se fait soit par :
  - Hasard ;
  - Screening systématique de molécules ;
  - Synthèse chimique ;
  - Recherche dirigée à partir d'un médicament, ou d'une substance naturelle.

- **Études pharmacologiques :** Permettent de connaître les caractéristiques de l'effet principal et des effets indésirables éventuels et de positionner le produit en comparaison à ceux déjà existants.
- **Études pharmacocinétiques :** Ces études permettent de préciser les modalités de résorption, de distribution, de métabolisation et d'élimination du produit en déterminant les différents paramètres pharmacocinétiques.
- **Études toxicologiques :** permettent de déterminer la Dose Letale 50 (DL50) dose capable de tuer 50% des animaux d'expérimentation. (TREMBLAY, 2006).

## 5.2. Les étapes cliniques

C'est l'ensemble des étapes d'études du médicament chez l'Homme. Les essais cliniques comportent quatre phases :

- 3 phases avant la commercialisation notés phase I, phase II et phase III ;
- 1 phase après la commercialisation noté phase IV.

**Phase I :** Première administration à l'Homme, se pratique chez le volontaire sain (Nombre de sujets: 100 à 200 personnes). Son but est de :

- Déterminer la dose minimale active ;
- Déterminer les paramètres pharmacocinétiques ;
- Déterminer l'acceptabilité du futur médicament.

La durée des essais est de 18 mois. La collection d'informations sur le premier contact de l'Homme avec la substance étudiée. Elle n'a pas pour but d'affirmer l'effet thérapeutique du produit.

**Phase II :** Se pratique chez le patient souffrant de la Maladie Cible (Nombre de sujets: 100 à 500 Patients). Son but est de :

- Obtenir l'opinion des médecins sur l'activité thérapeutique du produit ;
- Sonder les indications possibles, les effets indésirables, la durée de l'effet et la posologie optimale ;
- Poser les hypothèses de travail pour la phase suivante.

La Durée des essais est de 12-24 mois. Méthode ouverte, sans comparaison avec un placebo ou un médicament de référence (ZOUANT, 2013).

**Phase III :** il s'agit d'une grande phase des essais cliniques. Qui comprend une méthodologie scientifique rigoureuse (randomisée, en aveugle (simple ou double), contre un placebo ou une substance de référence). Nombre de sujets: 1000 à 3000 Patients. Son but est de :

- Déterminer le profil thérapeutique et le devenir pharmacocinétique du produit.

La durée des essais est de quelques années. Cette phase décisive de l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM).

**Phase IV :** c'est une phase qui commence après commercialisation et qui concerne les études à très grandes échelles. Son but est de:

- Affiner les indications thérapeutiques ;
- Établir l'innocuité du médicament ;
- Cibler des populations particulières ;
- Vérifier l'absence d'interactions médicamenteuses (KILADJIAN, 2011).

## 6. Brevet d'un médicament

Un brevet est un titre juridique qui protège une invention technique pour une durée limitée. Il permet à son titulaire d'empêcher des tiers d'exploiter l'invention sur le territoire pour lequel il a été délivré. Les brevets sont toujours publiés, afin que chacun puisse tirer profit des informations qu'ils contiennent. Le but est d'amortir les frais liés au développement du nouveau médicament en profitant d'une exclusivité temporaire. (ZOUANT, 2013).

## 7. Autorisation de mise sur le marché

Avant de pouvoir commercialiser un médicament, le laboratoire pharmaceutique doit compiler un dossier et le soumettre aux autorités réglementaires comme l'Agence européenne des médicaments (EMA) ou la FDA aux États-Unis (pour *Food and Drug Administration*). En 1950, la taille de ce dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM) était de 200 pages; aujourd'hui, elle est montée auprès de 150 000 pages. (TIABLA et TIRES.L, 2014).

Ce dossier doit être soumis dans chaque pays, sauf en Union Européenne où l'on peut en soumettre un seul pour l'ensemble de pays-membres.

Partout dans le monde, les autorités sanitaires exigent que le demandeur démontre :

- La qualité ;
- La sécurité d'emploi ;
- L'efficacité.

Le processus de fabrication doit être conforme aux normes internationales de fabrication, qui font que le produit fini devra avoir une qualité appropriée en termes de composition, de stabilité, de stérilité, de reproductibilité d'un lot à l'autre, etc. (DESCHAMPS, 2005).

Une fois les essais cliniques concluants, que le produit est candidat à la mise sur le marché, le fabricant dépose auprès de l'autorité compétente, un dossier comportant quatre parties :

- Pharmaceutique (galénique et analytique) ;
- Toxicologique ;
- Pharmacologique ;
- Clinique.

Après l'approbation du médicament, la production industrielle chimique (synthèse du principe actif) et galénique (fabrication du produit fini) peut commencer. Elle s'accompagne de contrôles de qualité, en cours de production et sur le produit fini. (ANONYME 12, 2012).

Ce dossier est minutieusement examiné et évalué par l'autorité réglementaire du pays, et avec l'avis d'experts, la demande d'autorisation peut être acceptée ou refusée (ANONYME 12, 2012).

## **8. Pharmacovigilance**

Est défini d'après la nouvelle réglementation de juillet 2012 par surveillance de la sécurité des médicaments pour s'assurer, dans l'intérêt de la Santé publique, que les risques d'un médicament ne l'emportent pas sur les bénéfices de celui-ci. (ANONYME6, 2012).

## **9. Réglementation des médicaments**

Le médicament n'est pas un produit anodin. Il répond à une définition précise, obéit à une réglementation très stricte, et s'inscrit dans un circuit hautement qualifié et surveillé.

Le médicament est l'un des produits de consommation les plus encadrés, si ce n'est le plus encadré. Depuis sa mise au point en recherche jusqu'à sa mise sur le marché et à l'information qui en est donnée, en passant par sa fabrication, de nombreuses réglementations encadrent toutes les étapes de sa vie.

En France, l'application de ces réglementations est du ressort des autorités de santé, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Cependant, le médicament évolue dans un contexte réglementaire de plus en plus européen. (ANONYME 7, 2006).

### **9.1. Réglementation pharmaceutique**

La réglementation pharmaceutique est un ensemble d'activités complémentaires destinées à promouvoir et à protéger la santé publique. Le contenu de cette réglementation diffère selon les pays mais peut comporter les fonctions suivantes:

- ✓ Homologation des médicaments : fabrication, importation, exportation, distribution, promotion et publicité ;
- ✓ Évaluation : innocuité, efficacité, qualité, délivrance des autorisations de mise sur le marché ;
- ✓ Inspection et surveillance des fabricants, importateurs, grossistes et dispensateurs ;
- ✓ Contrôle et suivi de la qualité des médicaments sur le marché ;
- ✓ Pharmacovigilance et fourniture aux professionnels et au public des informations indépendantes sur les médicaments. (ANONYME 8, 2013).

Les médicaments doivent être réglementés. L'utilisation de médicaments inefficaces, de mauvaise qualité et nocifs peut entraîner des échecs thérapeutiques, une exacerbation de la maladie, une résistance aux médicaments et même dans certains cas provoquer la mort. De plus, elle sape la confiance dans le système de santé, les professionnels de santé, les laboratoires pharmaceutiques et les distributeurs. L'argent dépensé en médicaments inefficaces et de mauvaise qualité est de l'argent gaspillé que ce soit par les consommateurs ou par l'Etat. (ANONYME 12, 2012).

- ✓ Les gouvernements doivent mettre en place de puissantes autorités nationales de réglementation pharmaceutique pour assurer que la fabrication, le commerce et l'utilisation des médicaments sont efficacement réglementés, dans le but de protéger et promouvoir la santé publique. (ANONYME 8, 2003).

## 9.2. Réglementation des médicaments en Algérie

Le ministère de la santé par le biais de la direction de la pharmacie et de médicament et l'administration chargée du contrôle, dans un cadre réglementaire, régissant l'utilisation, la distribution et la production des médicaments. Elle est chargée en coordination avec le Laboratoire de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP) de :

- L'évaluation et contrôle des médicaments ;
- L'homologation (DM) et de l'enregistrement (médicaments).

**Art. 10:** Les dispositions de l'article 175 de la loi n° 85-05 du 16 février 1985, susvisée, sont modifiées comme suit :

**Art. 175:** Tout médicament à usage de la médecine humaine prêt à l'emploi, fabriqué industriellement, importé ou exporté doit faire l'objet, avant sa mise sur le marché à titre gratuit ou onéreux, d'une décision d'enregistrement accordée par l'agence nationale des produits pharmaceutiques (ANPP) à usage de la médecine humaine prévue à l'article 173-1

ci-dessus après avis de la commission d'enregistrement des médicaments, créée auprès de cette agence ».

- La révision et le renouvellement de la décision d'enregistrement ;
- Suivi du contrôle de la qualité (contrôle de chaque lot de produit pharmaceutique avant sa commercialisation) ;
- Inspection.

Le LNCPP a organisé son système qualité à travers un système documentaire (procédures organisationnelles, procédures techniques, les enregistrements) (MANSOURI, 2008).

## 10. Référentiels du médicament

Un référentiel comporte un ensemble d'éléments formant un système de référence : il inspire des normes internationales et est spécifique d'un domaine. Un référentiel énonce des exigences auxquelles un système doit répondre, pour satisfaire aux exigences des clients ou pour répondre à une certification.

Les référentiels concernant l'industrie pharmaceutique sont de deux types : Les sources institutionnelles et les bases documentaires.

### 10.1. Sources institutionnelles

- **OMS** : l'organisation mondiale de la santé est une institution mondiale, sa mission est d'amener tous les peuples de monde à un niveau de santé le plus élevé possible, elle exerce son rôle par émission de directives approuvées par son comité d'évaluation (ANONYME 9, 2015).
- **PAHO** : L'Organisation panaméricaine de la santé (OPS), en anglais (Pan American Health Organization PAHO) est une organisation de santé publique dont la mission est d'améliorer le système de santé, et le niveau de vie des peuples du continent américain, en collaboration avec les ministres de la santé des différents états membres (ANONYME9, 2015).
- **EMA** : L'Agence européenne des médicaments en anglais (European Medicines Agency) est une agence européenne qui évalue, coordonne et supervise le développement des nouveaux médicaments à usage humain et vétérinaire dans l'Union européenne. Son autorité s'exerce à travers les Agences nationales. (ANONYME9, 2015).

## **10.2. Bases documentaire**

### **10.2.1. Pharmacopée**

C'est un ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de santé qui définit les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments (à usage humain et vétérinaire) voire leur contenant, et les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle. L'ensemble des critères permettant d'assurer un contrôle de la qualité optimale est regroupé et publié sous forme de monographies. Ces textes font autorité pour toute substance ou formule figurant dans la pharmacopée: ils constituent un référentiel opposable régulièrement mis à jour.

Il existe plusieurs pharmacopées : européenne ; britannique ; indienne ; chinoise...etc. (ANONYME9, 2015).

### **10.2.2. Conférence internationale d'harmonisation**

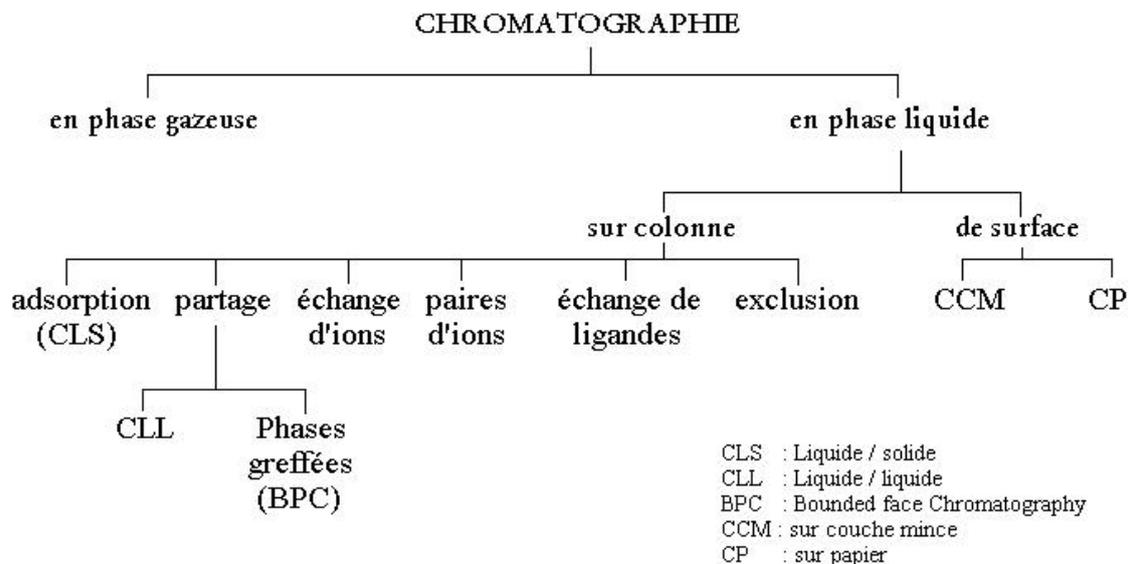
En anglais International Conference of Harmonisation. Initiative soutenue par les autorités de réglementation pharmaceutiques et l'industrie des trois grandes zones économiques du monde, à savoir les états unis ; l'Union Européenne et le Japon ; elle fixe des lignes directrices sur les données à fournir en vue de l'autorisation de mise sur le marché de nouvelles entités chimiques et biologiques à l'usage des membres de l'ICH. Ces lignes directrices sont parfois adoptées par d'autres pays pour des raisons d'harmonisation (ANONYME9, 2015).

## 1. Histoire de la chromatographie

En 1906 un chimiste russe, TSWETT, a séparé des pigments végétaux colorés sur une colonne remplie de carbonate de calcium pulvérulent, les pigments étaient entraînés avec de l'éther de pétrole (mélange pentanes et d'hexanes). Il a observé sur la colonne la formation de bandes de couleur différente (vert, orange, jaune..). Il a donné à cette technique le nom de chromatographie (écriture des couleurs). IL a défini également les termes: chromatogramme, élution et rétention. Cette technique fut quasi-abandonnée jusqu'en 1930, où EDGAR LEDERER a purifié par la méthode de TSWETT la lutéine du jaune d'œuf.

- ❖ Vers 1940, MARTIN et SYNGE développent la pratique et la théorie de la chromatographie, ils obtiennent le prix Nobel en 1952 ;
- ❖ En 1952, mise au point de la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) ;
- ❖ La chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP ou HPLC) a été découverte en 1965 par HALASZ, HORVATH ;
- ❖ En 1968, mise au point de la Chromatographie Liquide Haute Performance CLHP ou HPLC en anglais ;
- ❖ En 1979, première séparation chirale par HPLC. (BERTHILIER ,2013).

La figure suivante illustre les différentes techniques chromatographiques.



**Figure 2 :** Les différentes techniques chromatographiques.

## 2. Principe

Le principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre deux phases en contact : la phase stationnaire et la phase mobile (gaz ou liquide) qui se déplace. La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants du mélange. Ces derniers parcourent la phase stationnaire avec des temps proportionnels à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure, etc.) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité, ...) (DENAT, 2010).

### 2.1. Classification des techniques chromatographiques

La classification des techniques chromatographiques se base soit sur la nature de la phase stationnaire ou de la phase mobile, soit sur le mécanisme utilisé pour la séparation, la phase mobile peut être liquide (chromatographie en phase liquide), gaz (chromatographie en phase gazeuse) ou fluide (chromatographie en phase supercritique). (TIABLA et TIRES.L, 2014).

### 2.2. Classification selon la nature des phases

On distingue les différentes méthodes chromatographiques selon la nature des phases.

- ❖ **Phase stationnaire** : dans une colonne à travers laquelle progresse la phase mobile par gravité ou sous l'action d'une différence de pression appelée chromatographie sur colonne ;  
-sur une surface plane appelée chromatographie sur couche mince (CCM).
- ❖ **Phase mobile** : Phase qui se déplace sur ou à travers la phase stationnaire, entraînant avec elle l'analyte. le processus d'entraînement de cet analyte est appelé élution, la phase mobile peut être un liquide ou un gaz. (ANONYME10,2010).

## 3. Choix de la technique

Les différentes techniques sont complémentaires plutôt que concurrentes. Le choix de l'une ou l'autre dépend :

- ✓ **de la nature du soluté** : gaz, liquide volatil, liquide peu volatil, solide, macromolécule, espèce organique, polaire, ionique, ... ;
- ✓ **du but de l'analyse** : identification de composants d'un mélange, nécessité ou non de "coupler" la chromatographie avec une méthode spectroscopique ou avec la spectrométrie de masse (CPG/SM ou GC/MS), contrôle de pureté, purification de produits (colonnes préparatives), suivi de réaction en continu pour optimiser des paramètres, dosages (quantification)...etc. (DENAT, 2010).

## 4. Chromatographie liquide à haute performance

### 4.1. Introduction

En raison de sa polyvalence et du vaste domaine de ses applications, la chromatographie liquide haute performance (CLHP ou HPLC) est actuellement la plus utilisée de toutes les techniques de séparation.

-Le champ d'application de ce type de chromatographie recouvre une grande partie du domaine de la chromatographie en phase gazeuse auquel s'ajoute l'analyse

- ❖ des composés thermosensibles
- ❖ des composés très polaires
- ❖ ainsi que des composés de masses molaires élevées (JACOB, 2010).

### 4.2. Définition

La plupart du temps, dans l'industrie pharmaceutique, c'est la technique HPLC qui est majoritairement utilisée, principalement pour sa précision, sa fiabilité et sa reproductibilité.

La chromatographie liquide à haute performance est un type de chromatographie qui utilise une phase mobile liquide et une phase stationnaire très finement divisée. Pour obtenir un débit satisfaisant, il faut injecter l'éluant sous des pressions de plusieurs centaines de bars.

Cette technique est utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage de mélange de composés. L'échantillon est entraîné par un solvant passant à travers une colonne chromatographique. La présence d'un produit est détectée à la sortie de la colonne. (FRAGNIÈRE, 2008).

### 4.3. Principe de la séparation

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. À la sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme. (ANONYME10, 2010).

### 4.4. Avantages de la chromatographie liquide à haute performance

Parmi les avantages de cette technique, on peut citer

- ✓ Efficacité, sélectivité et champ d'application étendu ;
- ✓ Haute résolution ;
- ✓ Séparation rapide ;
- ✓ Ne nécessite que de petites quantités d'échantillon ;
- ✓ Mesure quantitative précise ;
- ✓ Répétabilité et reproductibilité des résultats pour une même colonne ;
- ✓ Traitement des échantillons non volatils et thermiquement instables ;
- ✓ Applicable aux ions inorganiques. (MENDEHMANE *et al.*, 2006).

#### 4.5. Intérêt de la HPLC dans le contrôle qualité en industrie pharmaceutique

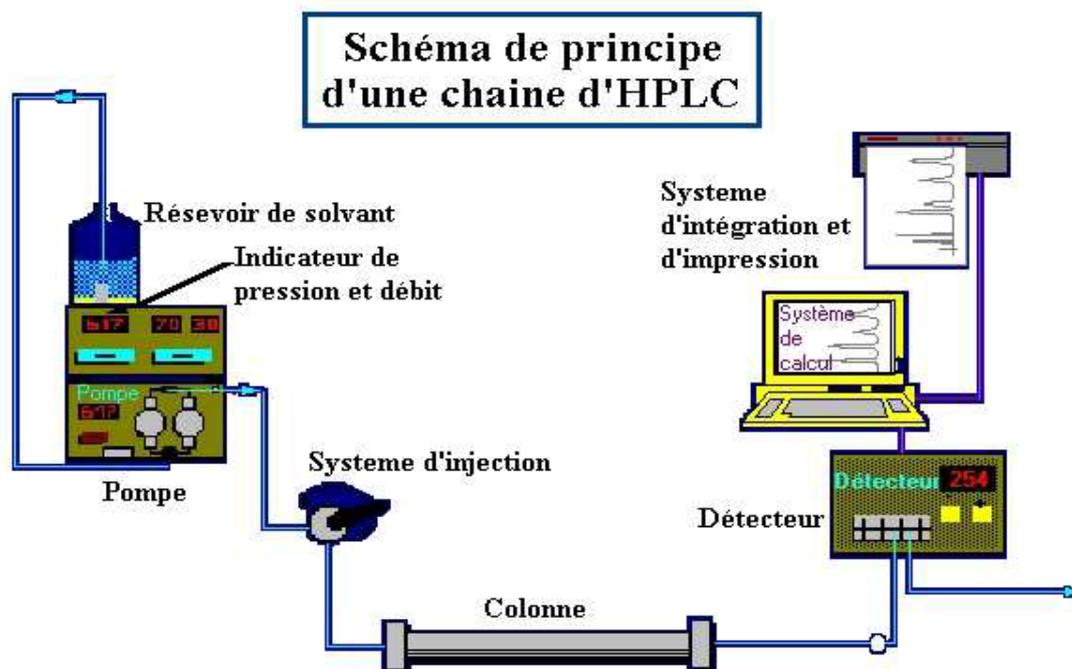
Dans l'industrie pharmaceutique moderne, la HPLC est l'outil majeur et partie intégrante d'analyse appliquée aux différentes phases du cycle de vie d'un médicament chimique ou biologique (découverte, développement et mise sur le marché).

La HPLC occupe une place indétrônable dans le contrôle qualité des produits pharmaceutiques grâce aux nombreux intérêts qu'elle offre :

- Identification et quantification des principes actifs et des impuretés;
- Evaluation de l'uniformité de la dose et de la stabilité de la préparation lors du stockage;
- Examiner la pureté et la qualité des préparations pharmaceutiques en particulier dans le cas où la chromatographie en phase gazeuse (CPG) est inappropriée en raison de sa stabilité thermique insuffisante ou de la faible volatilité des composants ;
- Estimation précise de la composition qualitative et quantitative des produits pharmaceutiques multi composants;
- Dosage et l'identification des liquides biologiques et des tissus ainsi que dans l'étude de leurs voies métaboliques et leur pharmacocinétique ;
- Identification des différents excipients, des agents stabilisants et des agents conservateurs d'un médicament
- La grande sélectivité de la méthode permet le dosage des impuretés, des isomères et les produits de dégradation des produits pharmaceutiques. (KOSTARNOI *et al.*, 2008).

#### 4.6. Appareillage

Un appareil d'HPLC comprend différents modules : un réservoir à solvant contenant la phase mobile, un système de pompage permettant d'effectuer des éluions graduées, un injecteur, une colonne, un détecteur et un système d'acquisition de données (ou d'un intégrateur ou enregistreur), la figure ci-dessous comporte les différentes composantes d'une chaîne HPLC.



**Figure 3 : Schéma d'une installation HPLC.** (ANONYME 9, 2015).

La phase mobile, délivrée à partir d'un ou plusieurs réservoirs, circule à travers la colonne, généralement à débit constant, puis passe à travers le détecteur. Ces modules sont reliés entre eux par l'intermédiaire de canalisations de très faible diamètre interne (0,1 mm) pour assurer la circulation de la phase mobile. (KILADJIAN, 2011).

#### 4.6.1. Système de pompage

Les systèmes de pompage pour HPLC doivent fournir la phase mobile à un débit constant. Il convient de limiter autant que possible les fluctuations de pression, par exemple en faisant passer le solvant sous pression à travers un dispositif amortissant les pulsations. Les tubes et raccords doivent pouvoir résister aux pressions développées par la pompe. Les pompes pour HPLC peuvent être équipées d'un dispositif de purge qui permet de chasser les bulles d'air emprisonnées.

Les systèmes pilotés par microprocesseur sont capables de délivrer avec précision une phase mobile de composition constante (élution isocratique) ou variable (gradient d'élution), selon un programme défini. Pour les chromatographies à gradient d'élution, il existe des systèmes de pompage qui délivrent le(s) solvant(s) à partir de plusieurs réservoirs, le mélange pouvant être effectué soit en amont (basse-pression) soit en aval (haute-pression) de la (des) pompe(s). (KOSTARNOI *et al.*, 2008).

### 4.6.2. Injecteurs

La solution à examiner est introduite dans la phase mobile circulante en tête de colonne, ou à proximité de celle-ci, à l'aide d'un système d'injection conçu pour fonctionner à pression élevée. Les injecteurs peuvent être à boucle fixe ou à volume variable, à fonctionnement manuel ou pilotés par un échantillonneur automatique. Le remplissage partiel des boucles, manuellement, peut entraîner une moindre fidélité du volume injecté. (ROUESSAC *et al.*, 2009)

### 4.6.3. Colonne chromatographique

La colonne se présente comme un tube, le plus souvent en acier inoxydable, dont la longueur et le diamètre intérieur présentent des différences selon les modèles. La plupart des colonnes ont une longueur de 10 à 30 cm et un diamètre intérieur de 4 à 10 mm, avec des tailles particulières de 5 à 10  $\mu\text{m}$ . Ce type de colonne offre souvent de 40 000 à 60 000 plateaux théoriques par mètre. (YURI.K et ROSARIO.L, 2007).

La longueur de la colonne peut influencer non seulement sur la résolution d'une séparation donnée (le nombre de plateaux est d'autant plus grand que la colonne est longue) mais aussi sur la vitesse de la séparation. Souvent c'est ce dernier critère qui dicte le choix de la longueur de la colonne. Les longueurs standard varient d'un fabricant à l'autre, mais les plus courantes sont de 300, 250, 150, 125, 100, 75 mm.

Les colonnes les plus longues sont dites colonnes standards et les plus courtes colonnes rapides (MENDEHMANE *et al.*, 2006).

#### 4.6.3.1. Caractéristiques de la colonne

Les paramètres qui permettent l'évaluation des performances d'une colonne sont les suivants :

##### 4.6.3.1.1. Nombre de plateaux théoriques N

La performance d'une colonne (efficacité apparente) peut être calculée à partir de données obtenues dans des conditions isothermes, isocratiques ou isodenses, selon la technique utilisée, en termes de nombre de plateaux (ou nombre apparent de plateaux théoriques) à l'aide de l'équation suivante :

$$N = 5.54 \left( \frac{t_R}{w_h} \right)^2$$

**N** : nombre de plateaux théoriques ;

**t<sub>R</sub>**: temps de rétention du pic correspondant au composant considéré ;

**w<sub>h</sub>**: largeur du pic à mi-hauteur ;

t<sub>R</sub> et w<sub>h</sub> doivent être exprimés dans la même unité.

Le nombre de plateaux dépend de la nature de l'analyte, de la colonne et de sa température, de la nature de la phase mobile et du temps de rétention des analytes (ANONYME 12, 2011).

#### 4.6.3.1.2. Hauteur Equivalente d'un Plateau Théorique (HEPT ou H)

Ce paramètre est calculé pour des composés de référence car il permet de comparer des colonnes de longueurs différentes, bien qu'il ne s'agisse en aucune façon d'une constante. Sa valeur dépend du composé choisi et des conditions de l'expérience. (ANONYME10, 2010). La hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT) est donnée par la relation suivante.

$$H = \frac{L}{N}$$

L : longueur de la colonne ;

N : nombre de plateau théorique.

#### 4.6.3.1.3. Résolution

La résolution est définie comme étant l'aptitude de la colonne à séparer deux solutés (1 et 2) donnant des pics voisins comme le montre la Figure 5. Elle peut être calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$R_s = 1,18 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{h1} + W_{h2}}$$

$$t_{R2} > t_{R1}$$

$t_{R1}$ ,  $t_{R2}$  : temps de rétention des pics,

$W_{h1}$ ,  $W_{h2}$  : largeur des pics à mi-haut.

Réponse

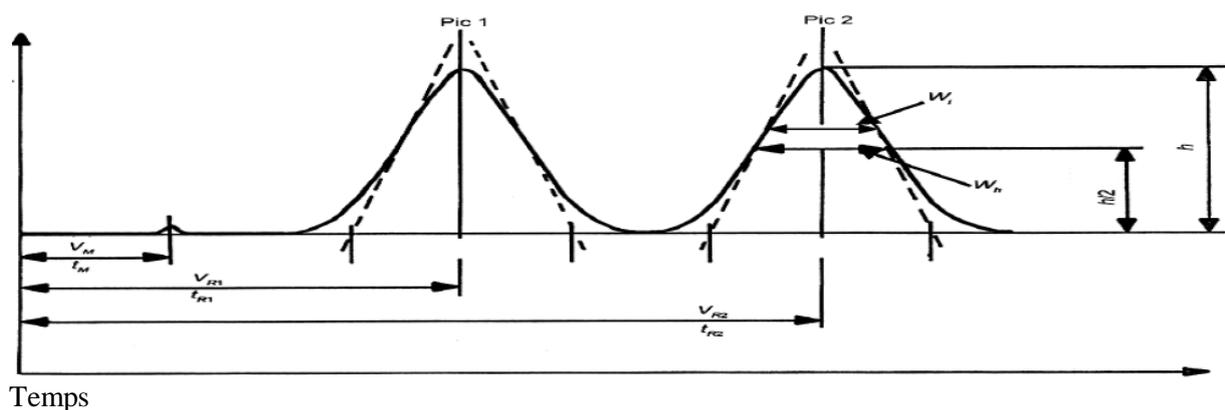
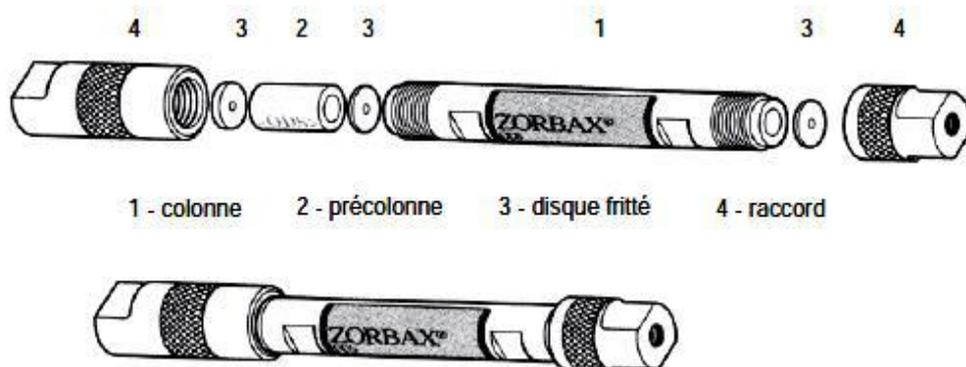


Figure 4 : Chromatogramme type (ANONYME11, 2011).

#### 4.6.4. La précolonne

La colonne est souvent précédée d'une précolonne, dite colonne de garde, courte (0,4 à 1 cm), remplie de la même phase stationnaire, ce qui sert à retenir certaines impuretés (figure 6).

On augmente ainsi la durée de vie de la colonne principale en préservant ses performances. La phase stationnaire est retenue à chaque extrémité par un fritté d'acier inoxydable de porosité inférieur à 2  $\mu\text{m}$ .



**Figure 5:** Colonne standard et précolonne de HPLC. (ROUESSAC.A et ROUESSAC.F, 2009).

#### 4.6.5. Détecteurs

Les détecteurs les plus utilisés sont les spectrophotomètres dans l'ultraviolet/visible (UV/Vis), ceux qu'on a utilisés. Ils mesurent l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne. On trouve aussi les détecteurs à barrette de diodes, la fluorimétrie, la réfractométrie différentielle, des méthodes électrochimiques, la spectrométrie de masse, la dispersion de la lumière, la radioactivité... etc. Les détecteurs absorptiométriques dans l'ultraviolet ou le visible et le réfractomètre différentiel sont les plus utilisés. Ces détecteurs sont les plus couramment utilisés en HPLC car ils sont peu sensibles aux fluctuations de débit et de température et un grand nombre de solvants ont une bonne transparence dans l'UV. (JACOB, 2010).

#### 4.7. Phase stationnaire

La phase stationnaire est constituée de microparticules sphériques ou d'un solide poreux dont la surface au contact de la phase mobile atteint plusieurs centaines de  $\text{m}^2$  par gramme, favorisant ainsi les mécanismes de partition avec les différents solutés présents (SKOOG et *al*, 1997).

De nombreux types de phases stationnaires sont utilisés citons : la silice (plus utilisé), l'alumine, des résines ou polymères à groupements acides ou basique et des supports chimiquement modifiés, préparés à partir de polymères, de silice ou de graphite poreux.

#### 4.8. Phase mobile

Le choix et la préparation de la phase mobile est d'une grande importance vu qu'elle est le solvant et le vecteur de l'échantillon à analyser donc elle devrait être choisie et préparée en ayant une bonne compatibilité avec l'échantillon et le système. Suivant un principe général, à une phase stationnaire polaire on oppose une phase mobile peu ou pas polaire et vice-versa. La chromatographie est dite en phase normale dans le premier cas et à polarité de phase inversée dans le second. (ROUESSAC.A et ROUESSAC.F, 2009).

#### 5. Optimisation d'une méthode HPLC

Réussir une bonne séparation des mélanges en un temps court par une méthode HPLC nécessite une optimisation de plusieurs paramètres. La géométrie de la colonne, le débit, la température, la nature de la phase mobile et de la phase stationnaire sont des paramètres qui influent énormément sur le temps d'élution et la résolution en chromatographie.

Les objectifs de l'optimisation d'une méthode HPLC sont divers, les plus importants sont :

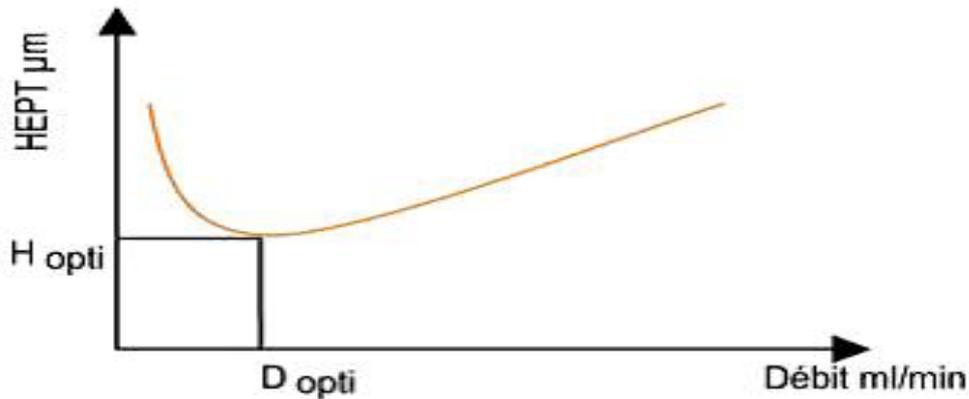
- la réduction du temps d'analyse ;
- l'augmentation de la résolution entre les analytes ;
- la réduction des coûts d'analyse;
- la réduction des quantités de solvant ;
- l'augmentation de la durée de vie du matériel. (ZOUANT, 2013).

##### 5.1. Choix de la température

Généralement, les colonnes HPLC sont portées à des températures d'environ 30°C. A cette température les colonnes s'affranchissent aux variations de température du laboratoire ainsi améliorent la reproductibilité des séparations. Selon les objectifs attendus, la température peut être diminuée ou augmentée. (ANONYME 11, 2011).

##### 5.2. Choix du débit

Les colonnes HPLC à base de silice peuvent théoriquement accepter tout débit à condition de respecter une pression conforme. L'efficacité de la colonne est directement liée au débit de la phase mobile comme le montre le graphe. La HEPT le nombre de plateaux théoriques décroît puis remonte selon le débit en passant par un minimum pour lequel la colonne est plus efficace (nombre maximal de plateau théorique). Il est donc préférable de travailler à un débit égal ou supérieur au débit optimal, de manière à garder la hauteur équivalente d'un plateau le plus petit possible et donc garantir un maximum d'efficacité. (ANONYME 10, 2010).



**Figure 6:** Courbe de Van Deemter.

## 6. Conformité du système

Lors d'optimisation d'une méthode HPLC les différents éléments de l'appareillage doivent être qualifiés afin d'atteindre la performance requise pour la réalisation des analyses considérées.

Les essais de conformité du système font partie intégrante de la méthode. Ils visent à vérifier les performances du système chromatographique. Les paramètres généralement utilisés pour évaluer les performances de la colonne sont (ANONYME 11, 2011).

- l'efficacité apparente ;
- le facteur de rétention (coefficient de distribution massique) ;
- la résolution ;
- la rétention relative ;
- le facteur de symétrie.

## 7. Validation d'une méthode HPLC

En industrie pharmaceutique, l'interprétation des données issues des résultats de contrôle d'un produit pharmaceutique par HPLC ne serait fiable que si la méthode utilisée est valide, or toute valeur expérimentale est entachée d'une incertitude de mesure qui limite l'applicabilité de la méthode utilisée.

En effet, la validation d'une méthode de contrôle d'un médicament par HPLC garantit que chacune de ces mesures qui seront réalisées en routine avec cette méthode seront suffisamment proches de la vraie valeur.

La validation analytique d'une méthode HPLC repose sur l'étude de plusieurs paramètres conformément aux normes nationales et internationales (KOSTARNOI et *al.*, 2008).

## 8. Chromatogramme

Sur le chromatogramme, chaque pic correspond à un produit détecté. Un pic idéal a une forme de Gaussien. Le chromatogramme fournit une information qualitative : le temps de rétention (ce temps est identique pour un produit dans des conditions identiques) et une information quantitative : la surface et la hauteur des pics qui sont proportionnelles à la quantité de produit. Afin de pouvoir doser un produit, il faut faire une courbe de calibration : quantité de produit en fonction de la surface du pic. (KOSTARNOI et *al.*, 2008).

## **1. Présentation de l'organisme d'accueil**

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire pharmaceutique Algérien, Biopharm. Fondé en 1992 par Mr. Abdelmadjid Kerrar. Aujourd'hui, le groupe compte environ 1200 collaborateurs dont un tiers de scientifiques. Durant deux décennies, Biopharm s'est engagée dans la distribution pharmaceutique et a contribué à la stabilisation du marché Algérien du médicament. Conçue sur un modèle adapté à la distribution pharmaceutique et répondant aux Bonnes Pratiques de Distribution, Biopharm Distribution allie proximité par son implantation géographique nationale, efficacité ainsi que l'offre d'une gamme de produits diversifiée. Pour répondre à la demande croissante, et confirmer son engagement dans la vie économique de l'Algérie, Biopharm accompagne la nouvelle politique de santé publique, où le besoin de maîtriser la facture du médicament se fait ressentir. Ce constat a amené le passage de BIOPHARM à la production locale depuis 2005, tant avec des produits sous licence de laboratoires leaders mondiaux, que des produits issus de sa propre Recherche et Développement, lesquels sont des médicaments génériques de qualité. Biopharm Production a été conçue et réalisée selon les règles de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). Pour appuyer ces engagements pour la qualité, Biopharm est certifiée ISO 9001 depuis 2008. Pour mener à bien ses projets de développement Biopharm investit dans des programmes de formation continue. Pour orienter le développement de sa gamme thérapeutique, Biopharm a constitué un comité scientifique en 2008. L'usine de Biopharm comprend une unité de production de différentes formes galéniques et répond aux exigences les plus strictes en matière de qualité et au standard international de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). En plus des produits génériques de qualité issus de sa propre Recherche et Développement, Biopharm offre plusieurs gammes qui ciblent différentes thérapeutiques.

## **2. Présentation du médicament**

### **2.1. Caractères organoleptiques**

Le principe actif se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche, inodore, d'une saveur amère en comprimé pelliculé.

### **2.2. Classe pharmaco-thérapeutique**

Urologiques; (appartient à la famille des inhibiteurs de la phosphodiésterase, traite les voies urinaires). Utilisé aussi dans l'hypertension artérielle, sa première utilisation était pour le traitement de l'angine de poitrine (ANONYME 9, 2015).

### 3. Matériel

Le matériel principal utilisé dans notre travail consiste en une Chaîne HPLC Alliance Waters avec une Colonne de partage. Nous donnerons un aperçu général sur les différentes

#### 3.1. Présentation du système HPLC Alliance Waters

##### 3.1.1. Différents compartiments de La chaîne HPLC Alliance Waters

Le module de séparations de l'alliance installé au niveau du laboratoire de développement analytique est une plate-forme de gestion de solvants et d'échantillons intégrée. Cette intégration de deux éléments traditionnels de chromatographie liquide à haute performance simplifie l'exécution de toutes les séparations délicates. Le module de séparations contrôle aussi la programmation des méthodes, La composition des solvants, Le débit, Le lavage du joint de piston, Le lavage de l'aiguille, L'injection des échantillons, Le dégazeur intégré, Les évènements externes (coupures de courant...), Le réchauffement de la colonne, Le réchauffement/refroidissement de l'échantillon. La chaîne HPLC Alliance Waters est dotée d'un système de gestion de solvant et d'un système de gestion des échantillons (ANONYME13, 2010).

##### 3.1.2. Condition chromatographiques et caractéristique de Colonne HPLC Alliance Waters

**Phase mobile :** Acétonitrile / Méthanol / Tampon pH 3,0 : (17/25/58) V/V, mélanger et dégazer.

Débit : 1,0 ml/min.

Longueur d'onde (détection): 290 nm.

Température de la colonne : 30°C.

Volume d'injection : 20  $\mu$ l.

La colonne HPLC utilisée dans ce travail est une colonne à gel de silice octadécylsilylé post greffé pour chromatographie dont les caractéristiques sont présentées dans le Tableau I.

**Tableau I :** Caractéristiques de la colonne HPLC Alliance Waters

Colonne	Paramètres		
	Longueur (mm)	Diamètres interne (mm)	Porosité ( $\mu$ m)
Colonne C18	150	3,9	5 $\mu$ m

##### 3.1.3. Détecteur Waters 2489 à doubles longueurs d'onde

Se compose d'un détecteur ultraviolet/visible (UV/Vis) programmable à deux canaux, conçus pour des applications en HPLC. Le Détecteur Waters 2489 à doubles longueurs

d'onde peut fonctionner soit en tant que module autonome (avec un enregistreur) soit en tant que module intégré à un système chromatographique (ANONYME13, 2010).

### 3.1.4. Contrôle par le logiciel Empower3

La chaîne HPLC Waters est pilotée par le système logiciel Empower version 3 de Waters comportant les éléments suivants :

- instrumentation chromatographique;
- Ordinateurs d'acquisition et de traitement de données chromatographiques ;
- Logiciel Empower, une application logicielle 32 bits d'acquisition et de gestion de données dotée d'une architecture de bases de données intégrée et avancée.

Le système acquiert des informations chromatographiques, les traite, les gère et génère des rapports. Empower convertit des résultats précis de haute qualité en informations utiles, tout en respectant la réglementation en vigueur et les conditions requises de sécurité.

Le logiciel Empower 3 qui permet d'effectuer toute une série d'opérations qui aboutissent au résultat de l'analyse chromatographique du produit à savoir :

- Des méthodes de pilotage HPLC (Instrument Method) ;
- Des méthodes de traitement de chromatogramme (Processing Method) ;
- Des méthodes d'édition de rapport d'analyse (Report Method).

### 3.2. Autres Equipements

Les autres équipements utilisés pour le projet sont présentés dans le Tableau II

**Tableau II : Autre équipements**

<b>Equipements</b>	
Agitateur magnétique : Magnetic Emotion	pH mètre : Mettler Toledo
Bain Ultrasons : Fisher Bioblock	Balance à précision : Mettler Toledo
Agitateur mécanique : Vortex génie	Dégazeur : Mettler Toledo

### 3.3. Matières premières et réactifs

#### 3.3.1. Produits

Le principe actif ainsi que l'excipient sont fournis par Biopharm. Les réactifs utilisés dans notre travail sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau III : Réactif et caractéristiques**

Réactif	Formule	Masse molaire (g/mol)	Apparence	Miscibilité	T° d'ébullition (°C)
<b>Méthanol</b>	CH <sub>4</sub> O	32,0419	Liquide incolore, d'odeur Caractéristique	Miscible avec l'eau et l'acétone en toute proportion	65
<b>Triéthylamine</b>	C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> N	101,19	Liquide incolore, d'odeur Caractéristique (âcre)	Miscible à l'eau aux températures inférieures à 18 °C.	89
<b>HCl</b>	HCl	36 ,461	Liquide Incolore	Miscible Avec l'eau	48
<b>Peroxyde D'hydrogène</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	34,0147	Liquide bleu pâle	Miscible Avec l'eau	150,2
<b>Acétonitrile</b>	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N	41 ,05	Liquide incolore, d'odeur Caractéristique	miscible à l'eau en toutes proportions et à de nombreux solvants organiques.	82
<b>Acide Phosphorique</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	98	Solide blanc ou liquide visqueux incolore	Miscible à l'eau en toutes proportions.	158
<b>Acide Formique</b>	CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	46,25	Liquide incolore, fumant d'odeur âcre	miscibles dans l'eau.	100,8
<b>Hydroxyde de sodium</b>	NaOH	39,997	Solide de forme variable, blanc déliquescent, inodore.	Miscible à l'eau	1390

#### 4. Méthodes

##### 4.1. Méthode de contrôle du produit fini médicament en comprimé pelliculé de 50mg

La méthode principale utilisée dans ce travail est une méthode interne à Biopharm destinée au contrôle du produit fini. La méthode est décrite dans la pharmacopée Européenne développée par leur fournisseur en matière première. Elle possède trois parties principales :

- a:** Identification et dosage moyen du principe actif ;
- b:** dosage des substances apparentées (dosage des impuretés) ;
- c:** Dégradation forcée.

### a. Identification et dosage moyen du principe actif

L'identification c'est le temps de rétention du principe actif de la solution échantillon qui doit correspondre à celui de la solution standard, obtenu par la méthode de dosage moyen.

### 4.2. Préparation des solutions pour l'identification et le dosage moyen du principe actif

➤ **Blanc** : il contient uniquement la phase mobile une fois injectée, pas d'apparition de pic. (témoin). Phase mobile (voir annexe 01).

➤ **Solution placebo** : elle contient (blanc+placebo) une fois injectée, pas d'apparition de pic. Dans une fiole jaugée de 50 ml, peser exactement 188mg de placebo ajouter 40ml de la phase mobile, mettre dans un bain à ultrasons pendant 15min, laisser refroidir et compléter au trait de jauge avec la phase mobile, Agiter. Solution placebo (1) Filtrer la solution placebo (1) à travers un filtre seringue 0,45µm, diluer 2ml du filtrat dans 50ml de la phase mobile. Solution placebo (2).

➤ **Solution standard à 100%**:C'est la référence elle contient uniquement le principe actif. Dans une fiole jaugée de 50 ml, peser exactement 70,24mg Principe actif WS, ajouter 40ml de la phase mobile, mettre dans un bain à ultrasons pendant 10min, laisser refroidir et compléter au trait de jauge avec le la phase mobile, Agiter. Diluer 2ml dans 50ml phase mobile.

➤ **Solution placebo chargée à 100%** : cette solution englobe (blanc+placebo+principe actif). Dans une fiole jaugée de 50 ml, peser exactement 188mg de placebo et 70,24mg de Principe actif ajouter 40ml de la phase mobile, mettre dans un bain à ultrasons pendant 15min, laisser refroidir et compléter au trait de jauge avec la phase mobile, Agiter. Solution échantillon (1).

Filtrer la solution échantillon (1) à travers un filtre seringue 0,45µm, diluer 2ml du filtrat dans 50ml de la phase mobile : Solution échantillon (2).

### b. Substances apparentées

### 4.3. Préparation des solutions pour l'identification et le dosage des substances apparentées

Les solutions sont préparées suivant le même protocole des solutions utilisées pour le dosage moyen.

### C. Dégradation forcée

Il s'agit d'un test chimique qui a pour but de démontrer tous les pics qui existent dans le produit afin de vérifier la qualité du médicament. Cette méthode est aussi indicatrice de la stabilité de ce dernier.

#### 4.4. Préparation des solutions pour la dégradation forcée du principe actif

- **Témoin** : Dans une fiole de 50 ml, peser exactement 70,24 mg de Principe actif, ajouter 40 ml de la phase mobile, mettre aux ultrasons pendant 10 minutes, laisser refroidir, puis compléter au volume avec le même solvant. Laisser à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h.
- **Hydrolyse acide** : Dans une fiole de 50 ml, peser exactement 70,24 mg de Principe actif, ajouter 20 ml phase mobile, mettre aux ultrasons pendant 15 minutes, ajouter 5ml HCl 5M, laisser à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h, neutraliser la solution (en ajoutant 5ml NaOH) et compléter à 50ml avec la phase mobile.
- **Hydrolyse alcaline** : Dans une fiole de 50 ml, peser exactement 70,24 mg de Principe actif, ajouter 20 ml phase mobile, mettre aux ultrasons pendant 15 minutes, ajouter 5ml NaOH 5M, laisser à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h, neutraliser la solution (en ajoutant 5ml HCl) et compléter à 50ml avec la phase mobile.
- **Dégradation oxydative** : Dans une fiole de 50 ml, peser exactement 70,24 mg de Principe actif, ajouter 20 ml phase mobile, mettre aux ultrasons pendant 15 minutes, ajouter 5ml peroxyde d'hydrogène concentré à 30%, laisser à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 2h, neutraliser la solution et compléter à 50ml avec la phase mobile.
- **Dégradation par la chaleur** : Dans une fiole de 50 ml, exactement 70,24 mg de Principe actif ont été pesés, 20 ml de phase mobile ont été ajoutés, le mélange est mis aux ultrasons pendant 15 minutes, puis à 50°C pendant 10 minutes au bain marie, laisser refroidir, puis compléter au volume avec le même solvant.
- **Dégradation par l'humidité** : Peser 2 g de Principe actif, mettre dans l'enceinte de stabilité pendant 24h à 40°C et 75% d'humidité. Dans une fiole de 50 ml, peser exactement 70,24 mg de Principe actif en tenant compte de la perte à la dessiccation, ajouter 20 ml phase mobile, mettre aux ultrasons pendant 15 minutes, laisser refroidir, puis compléter au volume avec le même solvant, laisser à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h.
- **Dégradation par photolyse** :
  - Témoin : non exposé à la lumière.
  - Echantillon exposé à une lumière visible et UV (illumination totale de 1200 Kluxh, intensité de 200 Wh/m<sup>2</sup>).
  - Peser 1 g de Principe actif, mettre dans l'enceinte de photostabilité jusqu'à atteinte d'une dose de 1200 KLuxh en lumière du jour et 200 Wh/m<sup>2</sup> en rayonnement UV.

- Dans une fiole de 50 ml, peser exactement 70,24 mg de Principe actif, ajouter 20 ml phase mobile, mettre aux ultrasons pendant 15 minutes, laisser refroidir, puis compléter au volume avec le même solvant.

**Remarque :** Ces conditions de dégradation sont initiales et peuvent être renforcées s'ils ne permettent pas la dégradation du principe actif.

#### 4.5. Méthodologie de la validation

##### 4.5.1. Conformité de système

La conformité du système renseigne sur l'aptitude du système à effectuer l'analyse suivant des critères préétablis. Elle sera démontrée en analysant 06 fois la solution standard.

Les paramètres à évaluer sont :

- ✓ Ecart type relatif du signal pour les 06 injections de la solution standard (Relatif standard déviation : RSD), moyenne et écart type ;
- ✓ Le nombre de plateaux théoriques ;
- ✓ Facteur de symétrie ;
- ✓ la résolution.

Le calcul du nombre de plateaux théoriques, facteur de symétrie et de la résolution sont résumés dans le Tableau IV.

**Tableau IV:** Calcul du nombre de plateaux théoriques, facteur de symétrie et de la résolution.

Paramètres	Formule	Critère d'acceptation
Nombre de plateaux théoriques	$N = 5,54(t_R/\delta)^2$	1500
Facteur de symétrie	$As = (\omega_{0.05}/2d)$	< 2,0
Résolution	$R_s = \frac{2 \times (t_{R2} - t_{R1})}{\omega_{1+2}}$	2,5
Le coefficient de variation (RSD)	$RSD = \frac{\delta}{m} \times 100$	2,0%

### 4.5.2. Spécificité

La spécificité de la méthode analytique est sa capacité d'évaluer sans équivoque l'analyte en présence d'autres composants.

La spécificité de la méthode analytique vis-à-vis de l'analyte sera démontrée en étudiant l'interférence du placebo.

L'interférence du placebo sera réalisée en préparant et analysant les différentes solutions suivantes :

- Phase mobile (blanc) ;
- Placebo ;
- Standard à 100% (PA).

La dégradation forcée est réalisée sur le principe actif mis en conditions de stress :

Acide (HCl à 5M), Base (NaOH 5M), Oxydant (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 30%), humidité, chaleur et lumière

#### - Critères d'acceptations

Dans les résultats obtenus à partir de la phase mobile et du placebo, il ne doit pas y avoir d'interférence par rapport au signal du sildénafil de la solution standard à 100% (interférence 2,0%) et par rapport au signal des impuretés connus (interférence 5,0%)

-Les pics apparaissant par dégradation forcée (impuretés) ne doivent pas interférer avec le pic du PA ;

-Les pics dus au placebo et/ou blanc doivent être signalés dans le rapport de validation.

### 4.5.3. Fidélité

#### 4.5.3.1. Répétabilité

La répétabilité d'une méthode analytique présente la qualité de l'accord entre des mesures répétées, effectuées sur un même échantillon dans des conditions constantes et déterminées. L'étude de répétabilité sera réalisée par un même opérateur le même jour, la préparation et l'analyse de la solution échantillon ou un « placebo chargé à 100% » sera refaite 06 fois. Sur les résultats obtenus on détermine l'écart type relatif, RSD des facteurs de recouvrement.

Le facteur de recouvrement est défini comme suit :

$$\text{Facteur de Recouvrement ( \% )} = \frac{\text{Concentration de l'analyte dans le placebo chargé}}{\text{Concentration introduite de l'analyte dans le placebo chargé}} \times 100$$

Sachant que :

**Concentration calculée :** C'est la concentration de l'analyte dans les solutions placebo chargé à 100%, et la concentration de l'analyte dans la solution standard.

**Concentration introduite :** C'est la concentration théorique de l'analyte dans les solutions placebo chargé à 100%.

#### 4.5.3.2. Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire de la méthode analytique exprime des variations dans le laboratoire : différents jours, différents analystes

Cas du dosage, dosage unitaire et impuretés :

Cette étude s'étalera sur 02 jours avec la participation de 02 manipulateurs (ou analystes).

Manipulateur 01: préparera une série de 04 solutions du placebo chargée à 100% par jour.

Manipulateur 02 : préparera une série de 04 solutions du placebo chargée à 100% par jour.

Les résultats obtenus dans le même jour constitueront une série, on obtiendra 02 série de 08 résultats chacune

- L'exploitation de résultats consiste à calculer le RSD intra, le RSD inter et le RSD total

**RSD intra:** exprime la variation à l'intérieur des groupes ;

**RSD inter:** exprime la variation entre les groupes ;

**RSD total:** exprime la variation totale.

#### - Critères d'acceptation

**Répétabilité :** Dosage moyen : le %RSD des facteurs de recouvrement pour les 06 préparations de la solution placebo chargé à 100% doit être 2,0 %.

**Fidélité intermédiaire :** Le RSD intra, RSD inter et RSD total doivent être 2,0 %

#### 4.5.4. Exactitude

C'est une suite de la démarche statistique initiée lors de l'étude de la fidélité intermédiaire. Elle est vérifiée par le calcul de l'erreur relative ou recouvrement entre la concentration introduite et la concentration calculée en tenant compte d'un système de référence. Ce % doit être compris entre la limite inférieure et supérieure.

Exactitude = 100-pourcentage de recouvrement (PR%).

-L'exactitude doit être 2,5

#### 4.5.5. Stabilité des solutions

C'est l'étude des conditions de la durée de stabilité des différentes solutions analysées.

On étudie la stabilité sur les solutions standards à 100% et les solutions placebo chargé à

100%. Chacune de ces solutions à été préparée en triple, le résultat de stabilité à un temps t pour une condition donnée est la moyenne arithmétique des 3 répétitions.

La stabilité des solutions a été étudiée pour une durée de 72 h et dans les conditions suivantes :

- Stabilité à température ambiante (24h, 48h, 72h)
- Stabilité au réfrigérateur (2°C-8°C)

#### 4.5.5.1. Stabilité des solutions au réfrigérateur

Pour ces conditions de stabilité le pourcentage de dégradation  $D_t$ . L'évaporation des solutions n'est pas envisageable car les fioles contenant les solutions soumises à l'étude devront être hermétiquement fermées.

$$D_t = \frac{|C_0 - C_t|}{C_0} \times 100$$

Avec :

$C_0$  : Concentration de l'analyte au temps initial en mg/ml.

$C_t$  : Concentration de l'analyte au temps t en mg/ml. Elle est calculée à partir du signal de l'analyte au temps t, les concentrations et les aires de l'analyte dans les solutions standards fraîchement préparées.

$$C_t = \frac{A_t}{2} \left( \frac{C_{STD1}}{A_{STD1}} + \frac{C_{STD2}}{A_{STD2}} \right)$$

$C_{STD1}$  et  $C_{STD2}$  : Concentration de l'analyte dans les solutions standard 1 et 2

$A_{STD1}$  et  $A_{STD2}$  : signal de l'analyte dans les solutions standard 1 et 2

$A_t$  : signal du pic de l'analyte dans la solution analysée à un temps t

$C_t$  : Concentration de l'analyte dans la solution analysée à un temps t (moyenne calculée à partir de 02 standards)

#### - Critères d'acceptation

-Les valeurs de  $x$  et  $D_t$  doivent être inférieure ou égal à 2,0% (à température ambiante et au réfrigérateur entre 2 à 8°C).

#### 4.5.6. Linéarité et intervalle de mesure

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité (dans l'intervalle étudié) d'obtenir les résultats d'essai qui sont directement proportionnels à la concentration (quantité) de l'analyte dans l'échantillon.

##### 4.5.6.1. L'intervalle de mesure

D'une procédure analytique est l'intervalle entre la concentration supérieure et inférieure de l'analyte dans l'échantillon pour lequel il a été démontré que la procédure analytique présente un niveau souhaitable de fidélité, d'exactitude et de linéarité (RAYNAND, 2011). Il est couvert par une série de 5 concentrations minimales, régulièrement espacées et positionnées autour de 100 % (70%, 90%, 100%, 110%, 130% de la concentration théorique).

##### 4.5.6.2. Linéarité sur le principe actif (standard)

La linéarité de la réponse lors de la détection de l'analyte est démontrée en préparant des solutions de l'analyte dans un intervalle déterminé à partir de la concentration étudiée (minimum cinq niveaux de concentration). Ces solutions sont analysées au minimum 3 fois.

###### 4.5.6.2.1. Gamme de linéarité sur le standard

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire une prise d'essai selon le niveau de la linéarité de 70% à 130% (voir Tableau V) de Principe actif, ajouter 40ml de la phase mobile, mettre dans un bain à ultrasons pendant 10min, laisser refroidir et compléter au trait de jauge avec le la phase mobile, Agiter. Diluer 2ml dans 50ml phase mobile.

**Tableau V** : Linéarité sur le standard (principe actif)

Niveau de linéarité	Prise d'essai du Principe actif (mg)
70 %	49,17
90 %	63,22
100 %	70,24
110 %	77,26
130 %	91,31

### 4.5.6.3. Linéarité sur placebo chargé

#### 4.5.6.3.1. Gamme de linéarité sur placebo chargé

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire une prise d'essai selon le niveau de la linéarité de 70% à 130% (voir tableau 08) du PA et 188mg placebo, ajouter 40ml de la phase mobile, mettre dans un bain à ultrasons pendant 15min, laisser refroidir et compléter au trait de jauge avec la phase mobile, Agiter. Solution échantillon (1)

Filtrer la solution échantillon (1) à travers un filtre seringue 0,45µm, diluer 2ml du filtrat dans 50ml de la phase mobile. Solution échantillon (2)

**Tableau VI : Linéarité sur le placebo chargé**

Niveau de Linéarité	Prise d'essai du Principe actif (mg)	Prise d'essai du Placebo (mg)
70 %	49,17	188
90 %	63,22	188
100 %	70,24	188
110 %	77,26	188
130 %	91,31	188

### 4.5.7. Robustesse

La robustesse d'une méthode est sa capacité à rendre des résultats exacts en présence de faibles changements de conditions expérimentales susceptibles de se produire dans l'utilisation de cette technique. Ce changement consiste en tout écart pouvant se produire pour un paramètre donné par rapport à sa valeur nominal définie dans la procédure d'analyse.

#### 4.5.7.1. Paramètres opératoires pour l'étude de la robustesse

Les paramètres opératoires à considérer pour la présente étude sont :

- Teneur en analyte, notée paramètre A ;
- Longueur d'onde notée paramètre B ;
- Débit de la phase mobile, noté paramètre C.

**Tableau VII :** Paramètres opératoires à considérer pour l'étude de robustesse.

	<b>Paramètre A</b> <b>Teneur en analyte</b> <b>(mg)</b>	<b>Paramètre B</b> <b>Longueur d'onde</b>	<b>Paramètre C</b> <b>Débit</b> <b>(ml/min)</b>
<b>Valeur nominale</b>	100	290	1
<b>Variation</b>	± 10 %	± 2 nm	± 0,2
<b>Niveau bas (-)</b>	90	288	0,8
<b>Niveau haut (+)</b>	110	292	1,2

Les solutions à préparer sont :

- Solutions échantillons (placebos chargés) : au nombre de 02
  - Echantillon 01 : Placebo chargé en principe actif à 90 % ;
  - Echantillon 02 : Placebo chargé en principe actif à 110 % .
- Une solution standard 100% pour la quantification des échantillons.

Les échantillons 01 et 02 seront analysés pour chacune des phases mobiles à deux débits

**Tableau VIII :** Solution pour robustesse sur placebo chargé

<b>Solution placebo chargé</b>	<b>Prise d'essai de Principe actif (mg)</b>	<b>Débit (ml/min)</b>	<b>Longueur d'onde (nm)</b>
Solution (1) à 90%	63,22	1,2	288
Solution (1) à 90%	63,22	1,2	292
Solution (2) à 110%	77,26	1,2	288
Solution (2) à 110%	77,26	1,2	292
Solution (1) à 90%	63,22	0,8	288
Solution (1) à 90%	63,22	0,8	292
Solution (2) à 110%	77,26	0,8	288
Solution (2) à 110%	77,26	0,8	292

#### - Critères d'acceptation

-Si la valeur 0 est comprise dans l'intervalle de confiance d'un paramètre, l'effet de ce paramètre pour les variations admises est non significatif sur la réponse obtenue. La méthode sera jugée robuste pour la variation du ce paramètre.

#### **4.5.8. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)**

**LOD** : C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte.

**LOQ** : C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être quantifiée comme une valeur exacte.

**Méthode** : Préparer une série de solutions de l'impureté (au minimum 5) à différentes concentrations (de la limite de report à 120% de la limite d'acceptation).

Les solutions seront injectées au minimum 03 fois et les hauteurs des pics seront enregistrées.

##### **4.5.8.1. Gamme de linéarité LOD/LOQ**

###### **Préparation de la solution stock de PA : (C= 40,0µg/ml)**

Dans une fiole jaugée de 50 ml, peser exactement 70,24mg Principe actif, ajouter 40ml de la phase mobile, mettre dans un bain à ultrasons pendant 15min, laisser refroidir et compléter au trait de jauge avec la phase mobile, Agiter. Diluer 2ml dans 50ml de la phase mobile.

###### **Préparation des solutions filles**

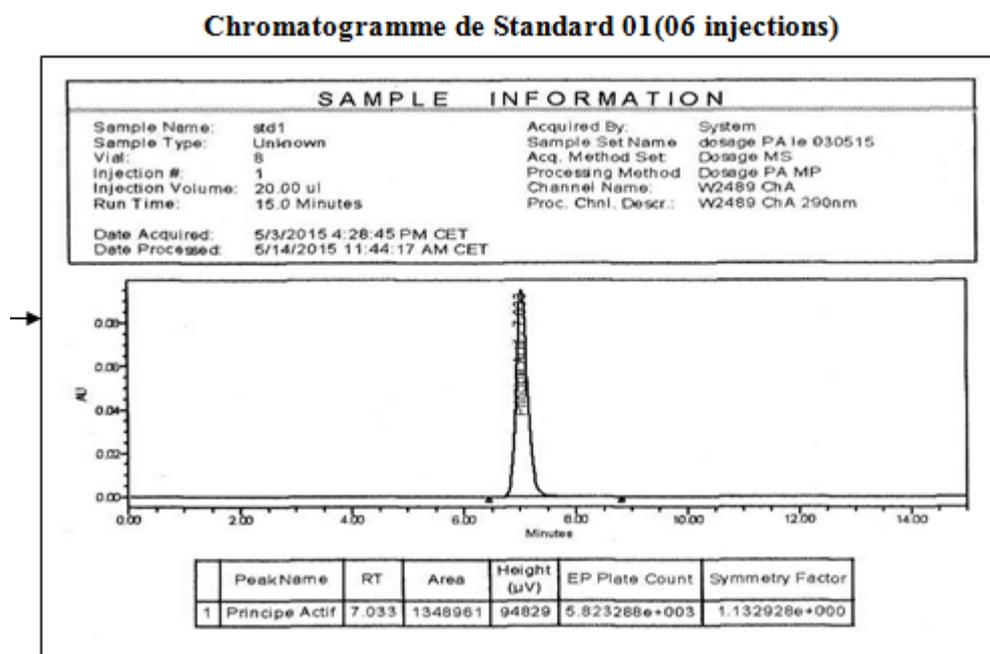
Préparer une série de solutions avec des concentrations différentes en faisant des dilutions successives de la solution stock selon les concentrations décrites dans le tableau suivant :

**Tableau IX : Gamme de solutions pour LOD/LOQ**

<b>Niveau de Linéarité</b>	<b>Concentration en Principe actif (ml)</b>	<b>Volume à prélever de la solution stock de Principe actif (ml)</b>	<b>Volume à compléter avec la phase mobile (ml)</b>
<b>25 %</b>	0,5	2,5	200
<b>40 %</b>	0,8	2	100
<b>80 %</b>	1,6	2	50
<b>100 %</b>	2,0	5	100
<b>120 %</b>	2,4	3	50

### 1. Evaluation de la conformité du système (system suitability)

La conformité du système renseigne sur l'aptitude du system à effectuer l'analyse suivant des critères préétablis. Voir chromatogramme et (tableau X et XI).



**Figure 7 : Chromatogramme de standard 1.**

**Tableau X : Calcul du %RSD**

Lecture/Injection N°	Signal du standard 1
1	1348961
2	1349260
3	1350595
4	1352130
5	1352878
6	1354020
<b>Moyenne</b>	135130347
<b>Ecart type</b>	2702,61
<b>% RSD (<math>\leq 2,0</math>)</b>	0,2%

**Tableau XI** : Calcul du nombre de plateaux théoriques, facteur de symétrie et de la résolution :

Paramètre	Formule	Résultats	Critère d'acceptation
Nombre de plateaux théoriques	$N = 5,54(t_R/\delta)^2$	<b>5823</b>	$\geq 1500$
Facteur de symétrie	$As = (\omega_{0,05}/2d)$	<b>1,1</b>	$< 2,0$
Résolution	$Rs = \frac{2x(t_{R2}-t_{R1})}{\omega_{1+\omega_2}}$	<b>5,2</b>	$\geq 2,5$
Le coefficient de variation (RSD)	$RSD = \frac{\delta}{m} \times 100$	<b>0,2</b>	$\leq 2,0\%$

**-Calcul du facteur de similarité :**

$$\text{Facteur de similarité} = \frac{Aire_{std 2} \times Pe_{std 1}}{Aire_{std 1} \times Pe_{std 2}} \times 100$$

Avec :

$A_{std 1}$  : Absorbance de PA de la solution standard 1,

$A_{std 2}$  : Absorbance de PA de la solution standard 2,

$Pe_{std 1}$  : Prise d'essai du standard 1 (mg),

$Pe_{std 2}$  : Prise d'essai du standard 2 (mg),

**Norme** : 98 – 102 %,

$$\frac{1356881}{1351307} \times \frac{70,32}{70,36} \times 100 = 100,4\%$$

La norme : [98% -102% ]

- Le nombre de plateaux théorique : est fixé du durant la validation analytique,
- Résolution :  $=5,2 > 2,5$ ,
- Le RSD :  $0,2\% < 2\%$ ,

**-Interprétation**

Les résultats obtenus répondent aux critères d'acceptation, le système est apte à effectuer les analyses.

## 2. Spécificité

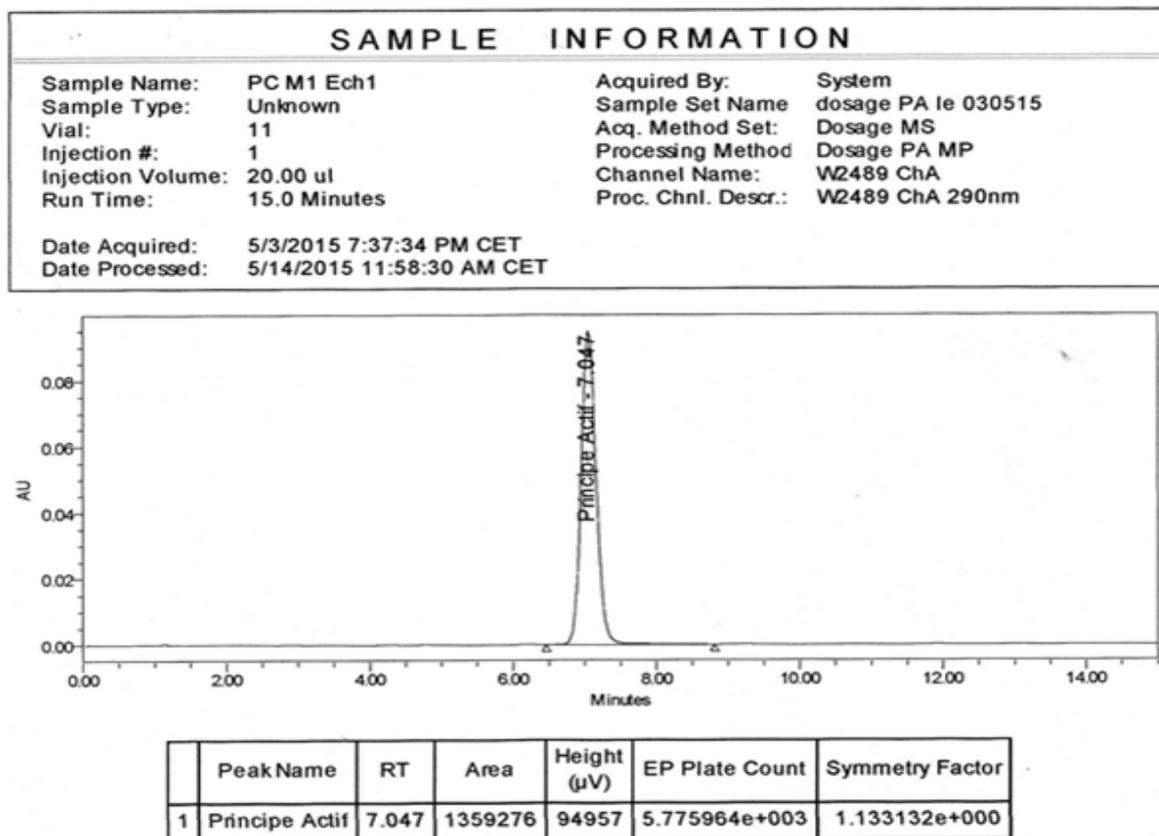


Figure 8 : Chromatogramme de Principe Actif

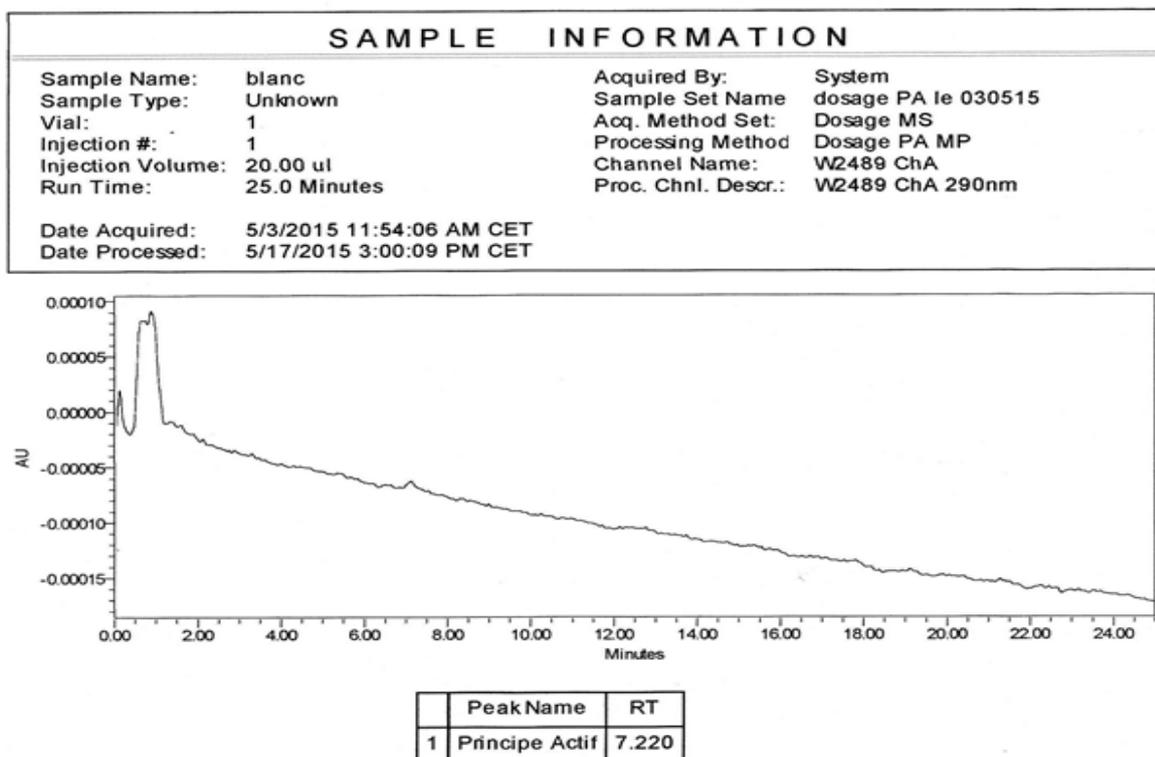
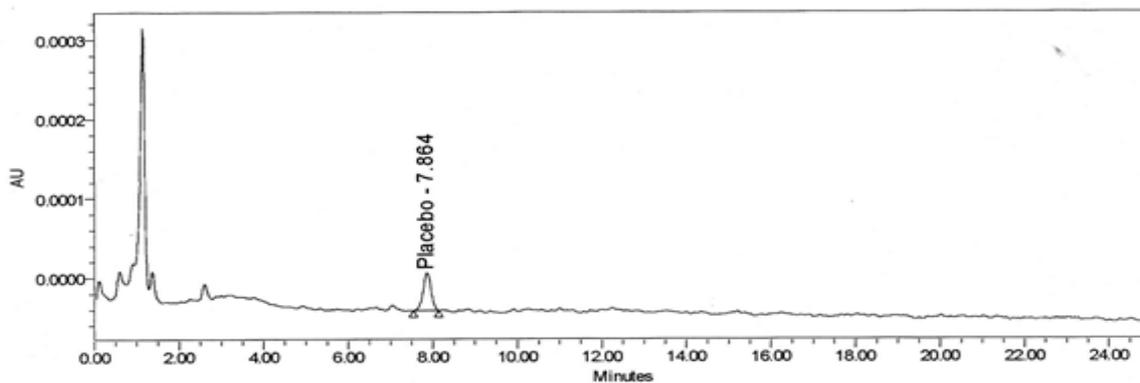


Figure 9 : Chromatogramme de La phase mobile : le blanc

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	sol placebo (2)	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 030515
Vial:	3	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	mp placebo
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/3/2015 1:37:40 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 4:19:25 PM CET		

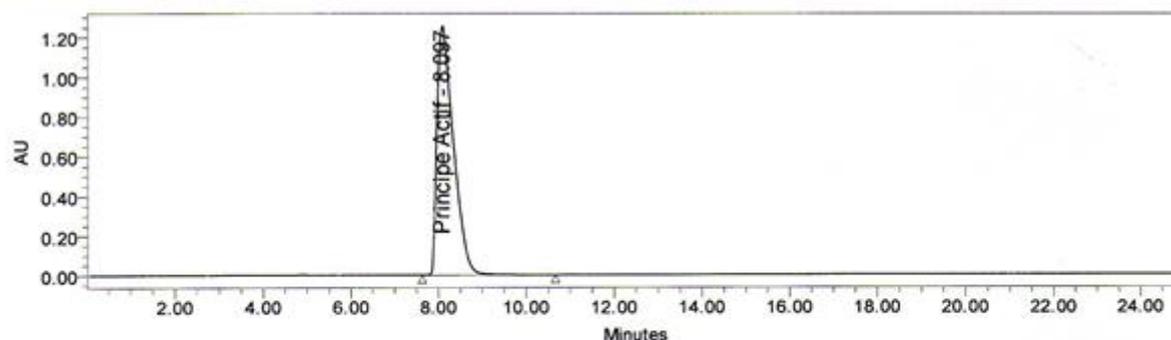


	Peak Name	RT	Area	Height (μV)
1	Placebo	7.864	609	47

Figure 10 : Chromatogramme : Placebo

Chromatogrammes de la dégradation forcée :Acide ,Témoin ,Oxydant .Humidité et Température

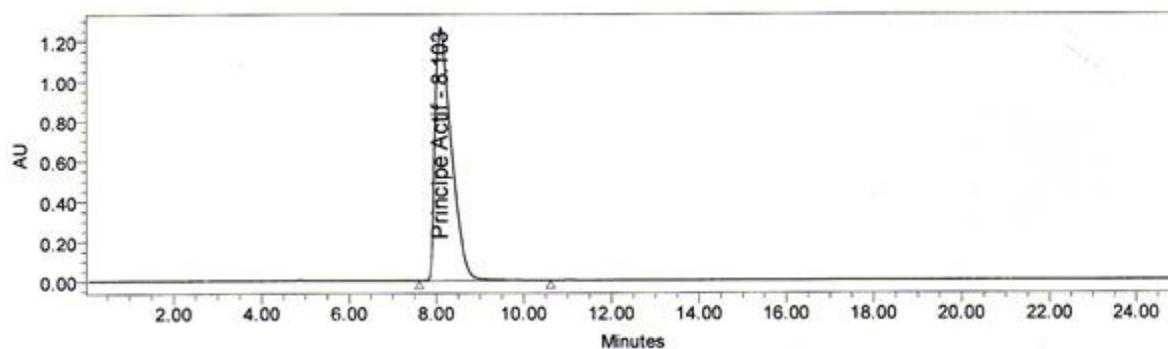
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	photolyse echantillon	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	15	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	FDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 20:23:00 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:36:54 CET		



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.097	33237342	1256547

Figure 11 : Chromatogramme de la dégradation forcée : photolyse

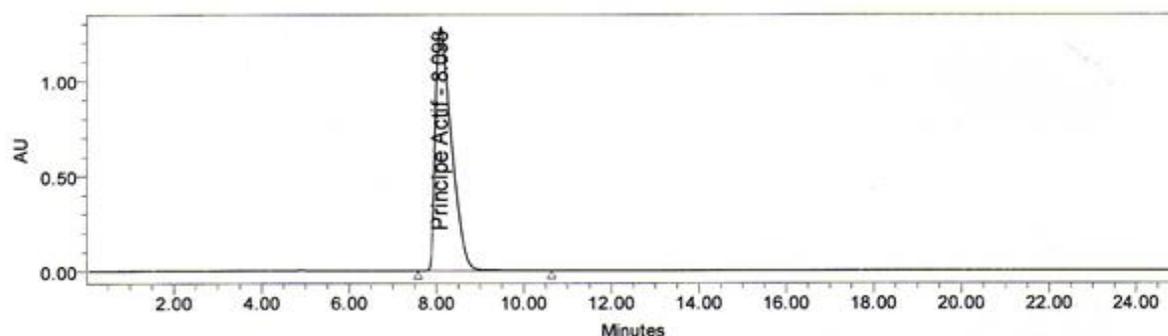
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	echantillon oxydativ	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	17	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 21:15:12 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:36:54 CET		



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.103	33464748	1267117

Figure 12 : Chromatogramme de la dégradation forcée : oxydative

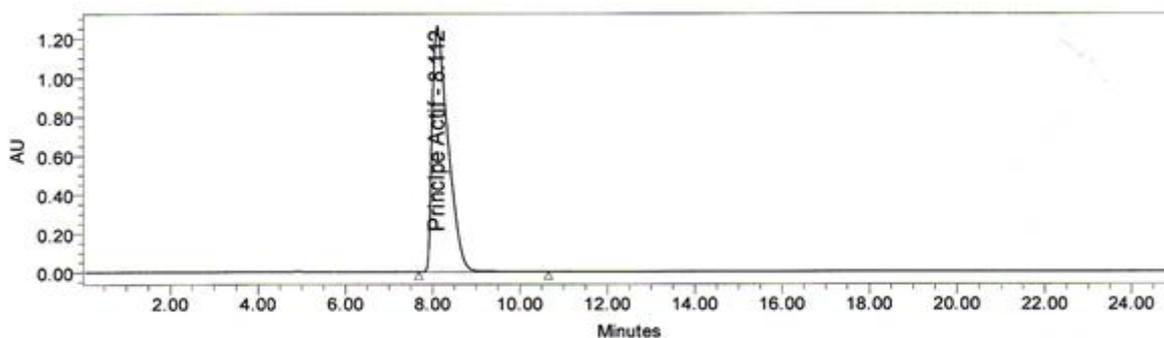
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	echantillon chaleur	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	16	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 20:49:07 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:36:54 CET		



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.098	33374415	1281968

Figure 13 : Chromatogramme de la dégradation forcée : chaleur

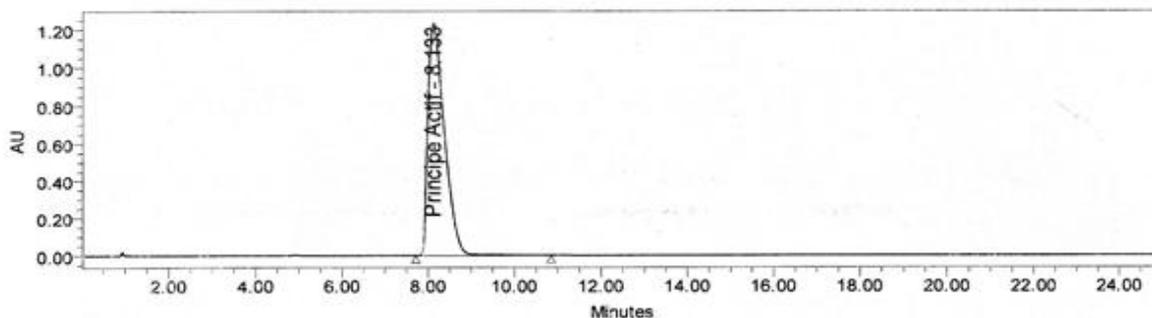
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	echantillon humide	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	20	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 21:41:18 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:36:54 CET		



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.112	32533727	1261433

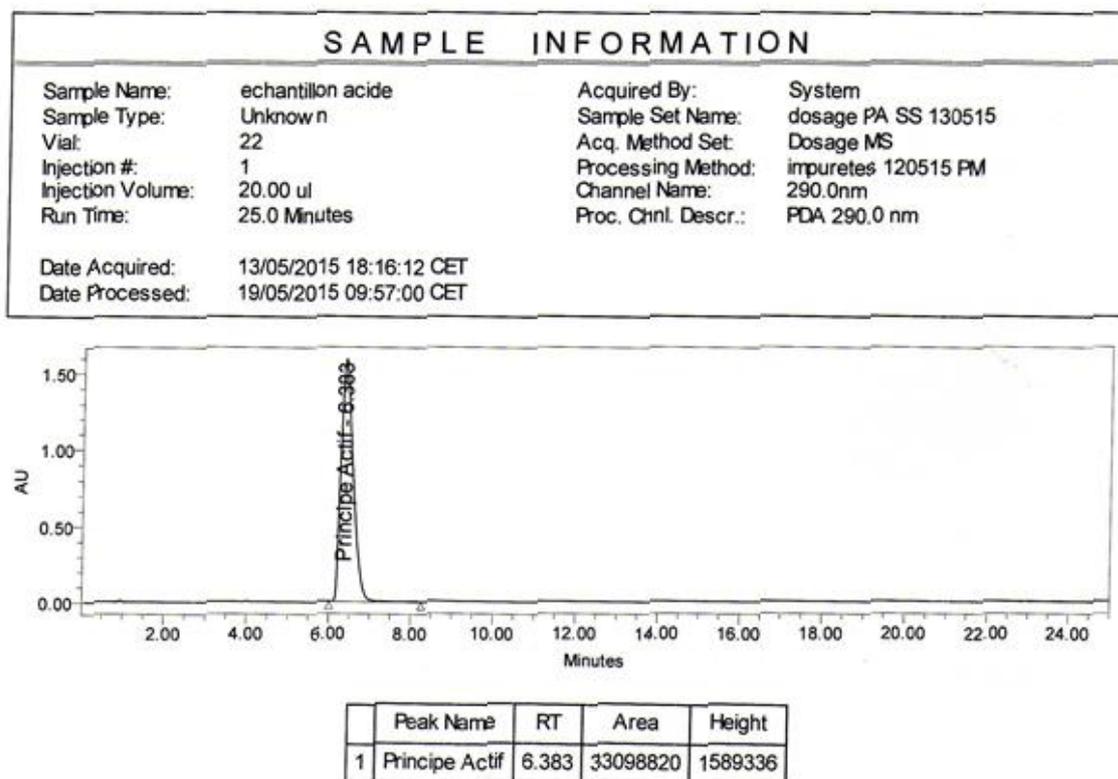
Figure 14 : Chromatogramme de la dégradation forcée : humidité

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	echantillon alcalin	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	21	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 22:07:24 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:48:07 CET		



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.133	33213798	1235953

Figure 15 : Chromatogramme de la dégradation forcée : alcalin



**Figure 16: Chromatogrammes de la dégradation forcée : Acide**

### Interprétation

Les chromatogrammes obtenus ont montrés l'absence d'interférence du placebo, et de la phase mobile sur le pic du principe actif, Les résultats de l'étude de la dégradation forcée ont montré que le principe actif n'est pas dégradé par l'acide, base, température, humidité, le peroxyde d'hydrogène et la lumière (voir annexe),

### Conclusion

On conclut que la méthode est spécifique pour le dosage de l'analyte étudié.

### 3. Linéarité

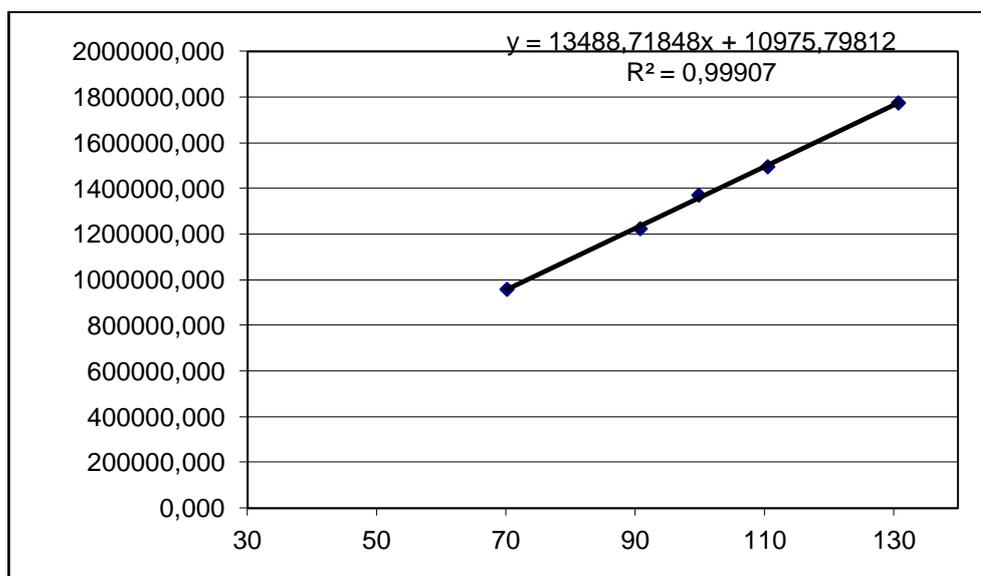
#### 3.1. Linéarité sur le Principe actif

La linéarité sur le principe actif est représenté dans les tableaux XII et XIII

La linéarité a été étudiée sur un intervalle de (70% et 130%), les résultats ont montrés que la méthode est linéaire dans les intervalles cités à savoir le coefficient de régression qui est  $\geq 0,99$  et le biais moyen de 110,1% est compris entre 95 % et 105,7%( figure 7).

**Tableau XII : Linéarité sur le Principe actif**

Niveau de linéarité	Prise d'essai du citrate de PA (mg)
70 %	49,17
90 %	63,22
100 %	70,24
110 %	77,26
130 %	91,31

**Figure 17 :** Droite de la régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte, (Linéarité sur PA)

La droite de régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte est tracée. La pente **a** et l'ordonnée à l'origine **b** de la droite ainsi que le coefficient de corrélation **R** sont calculés et l'équation de la droite de régression est établie.

$$Y = aX + b$$

<b>a</b>	13486,60511
<b>b</b>	11105,1803

**Tableau XIII : Détermination de Linéarité sur le Principe actif**

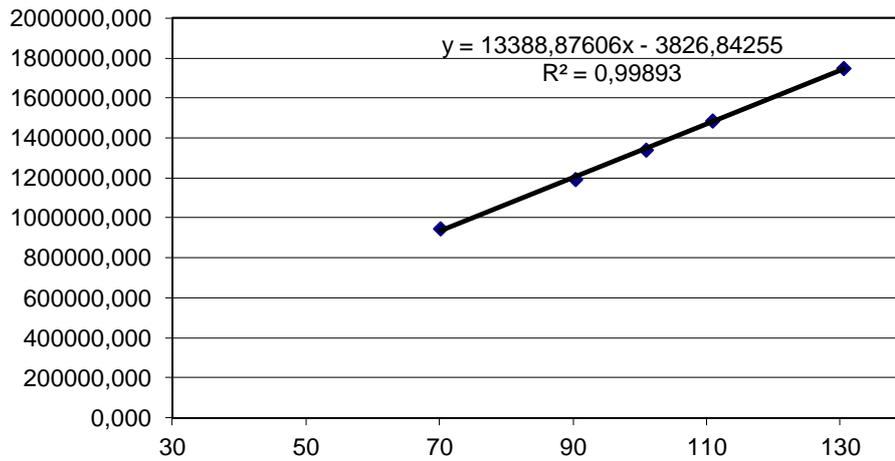
[C] théorique	[C] Réelle (xi réel) en %	Signal (Yi)	Moyenne	Xi	Bj	Biais Moyenne %
<b>70</b>	70,14	958368,000	959045,333	70,24	100,14	110,01
		959836,000		70,35	100,29	
		958932,000		70,28	100,20	
<b>90</b>	90,77	1224281,000	1224583,333	89,95	99,10	
		1224823,000		89,99	99,15	
		1224646,000		89,98	99,13	
<b>100</b>	99,84	1370509,000	1371537,000	100,80	100,96	
		1372896,000		100,97	101,14	
		1371206,000		100,85	101,01	
<b>110</b>	100,51	1495890,000	1495825,333	110,09	99,62	
		1494952,000		110,02	99,56	
		1496634,000		110,15	99,67	
<b>130</b>	130,74	1773240,000	1775224,667	130,66	99,94	
		1774969,000		130,79	100,04	
		1777465,000		130,97	100,18	

### 3.2. Linéarité sur placebo chargé

La linéarité a été étudiée sur un intervalle de (70% et 130%)(tableau XIV) , les résultats ont montrés que la méthode est linéaire dans les intervalles cités à savoir le coefficient de régression qui est  $\geq 0,99$  figure 8 et le biais moyen de 98.14% qui est compris entre 95 % et 105,7%.(tableau XV)

**Tableau XIV : Gamme de linéarité sur le placebo chargé**

Niveau de Linéarité	Prise d'essai du PA (mg)	Prise d'essai du Placebo (mg)
<b>70 %</b>	49,17	188
<b>90 %</b>	63,22	188
<b>100 %</b>	70,24	188
<b>110 %</b>	77,26	188
<b>130 %</b>	91,31	188



**Figure 18** : Droite de la régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte, (Linéarité sur le Placebo chargé).

La droite de régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte est tracée

La pente  $a^{\wedge}$  et l'ordonnée à l'origine  $b^{\wedge}$  de la droite ainsi que le coefficient de corrélation

$R$  sont calculés et l'équation de la droite de régression est établie.

$$Y = a^{\wedge}X + b^{\wedge}$$

$a^{\wedge}$	13388,87606
$b^{\wedge}$	-3826,84255

**Tableau XV** : Détermination de l'équation de l'adroite du signal en fonction de la concentration de l'analyte, le coefficient de régression et le biais moyen (placebo chargé).

<b>[C] théorique en (%)</b>	<b>[C] Réelle (xi réel) en (%)</b>	<b>Signal (Yi)</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Yi  PLC Chargé</b>	<b>Yi  PA</b>	<b>Bi (%)</b>	<b>Biais Moyen (%)</b>
<b>70</b>	70,17	946663,000	946445,333	935670,591	957460,26	97,72	98,14
		946669,000		935670,591	957460,26	97,72	
		946016,000		935670,591	957460,26	97,72	
<b>90</b>	90,4	1193899,000	1193441,333	1206527,553	1230294,28	98,07	
		1193899,000		1206527,553	1230294,28	98,07	
		1193300,000		1206527,553	1230294,28	98,07	
<b>100</b>	100,98	1341601,000	1340654,667	1348181,862	1372982,56	98,19	
		1340450,000		1348181,862	1372982,56	98,19	
		1339913,000		1348181,862	1372982,56	98,19	
<b>110</b>	110,94	1487206,000	1486497,667	1481535,068	1507309,15	98,29	
		1486193,000		1481535,068	1507309,15	98,29	
		1486094,000		1481535,068	1507309,15	98,29	
<b>130</b>	130,58	1746238,000	1749364,667	1744492,593	1772186,07	98,44	
		1749139,000		1744492,593	1772186,07	98,44	
		1752717,000		1744492,593	1772186,07	98,44	

## 4. Fidélité

### 4.1. Répétabilité

Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau XVI

**Tableau XVI:** Répétabilité sur standard

Echantillons	Signal Standard	Signal Echantillon	Concentration calculée (mg /ml)	Concentration introduite (mg /ml)	Facteur de recouvrement (%)
1	1351307	1359276	0,0566	0,0567	99,9
2	1351307	1360901	0,0572	0,0564	100,4
3	1351307	1373377	0,0572	0,0566	101,9
4	1351307	1360647	0,0566	0,0562	100,9
5	1351307	1367795	0,0569	0,0564	100,8
6	1351307	1377386	0,0573	0,0564	101,8
<b>Moyenne</b>					100,8
<b>SD</b>					0,6
<b>RSD</b>					0,6

**Facteur R** : facteur de recouvrement (%)

### Interprétation

Le coefficient de variation (RSD) de la répétabilité est inférieur à la valeur limite d'acceptation qui est 2,0 %, on conclut que la méthode est répétable,

Les résultats des chromatogrammes obtenus pour la partie répétabilité sont représentés en annexe correspondant .

### 4.2. Fidélité intermédiaire

Les résultats obtenus dans le même jour constitueront une série, on obtiendra 02 série de 08 résultats chacune (Tableau XVII).

**Tableau XVII:** Evaluation de la fidélité intermédiaire.

	Echantillon	Pesée Echantillon (mg)	Signal Standard	Signal échantillon	[ ] Cal (mg/ml)	[ ] Int (mg/ml)	Facteur de R (%)
<b>Analyste 01 Série 01 (jour01)</b>	Echantillon 1	70,83	1351307	1359276	0,057	0,057	99,91
	Echantillon 2	70,55	1351307	1360901	0,057	0,056	100,4
	Echantillon 3	70,69	1351307	1373377	0,057	0,057	101,1
	Echantillon 4	70, 2	1351307	1360647	0,057	0,056	100,9
<b>Analyste 01 Série 02 (jour02)</b>	Echantillon 1	70,73	1359934	1345686	0,056	0,057	98,4
	Echantillon 2	70,29	1359934	11354052	0,065	0,056	99,9
	Echantillon 3	70,97	1359934	1366011	0,057	0,057	99,8
	Echantillon 4	70,98	1359934	1352859	0,056	0,057	99,1
<b>Analyste 02 Série 01 (jour01)</b>	Echantillon 1	70,56	1351307	1371874	0,057	0,056	101,2
	Echantillon 2	70,13	1351307	136111	0,057	0,056	101,1
	Echantillon 3	70,45	1351307	1362742	0,057	0,056	100,7
	Echantillon 4	70,19	1351307	135186	0,056	0,056	100,5
<b>Analyste 02 Série 02 (jour02)</b>	Echantillon 1	70,51	1359934	1366147	0,057	0,056	100,5
	Echantillon 2	70,82	1359934	1368605	0,057	0,057	100,2
	Echantillon 3	70,78	1359934	1372860	0,057	0,057	100,6
	Echantillon 4	70,5	1359934	1380287	0,057	0,056	101,5

- L'exploitation de résultats consiste à calculer le RSD intra, le RSD inter et le RSD total

**RSD intra:** exprime la variation à l'intérieur des groupes,

**RSD inter:** exprime la variation entre les groupes,

**RSD total:** exprime la variation totale.

RSD intra	RSD inter	RSD total
0,64	0,14	0,63

### Conclusion du paramètre fidélité intermédiaire

Les résultats obtenus répondent aux critères d'acceptation, la fidélité intermédiaire de la méthode est jugée donc démontrée,

Les chromatogrammes obtenus pour la partie fidélité intermédiaire sont représenté en annexe.

### 5. Exactitude

**Exactitude** = 100-pourcentage de recouvrement (PR%)

Valeur de référence	PR (%)	Limite inférieure	Limite supérieure	Exactitude
100,00	100,34	99,79	100,90	0,34

### Interprétation

Le pourcentage de recouvrement est compris entre la limite inférieure 99,79 et limite supérieure 100,90 et l'exactitude (dosage et impureté).

➤ L'exactitude :  $0,34\% \leq 2,5\%$ .

### Conclusion générale

Les résultats de la fidélité intermédiaire et la répétabilité et de l'exactitude satisfont aux normes, donc on conclut que la méthode est fidèle et exacte,

### 6. Stabilité des solutions

#### Résultats

Les aliquotes ainsi que les viales contenant des solutions à analyser doivent être fermées hermétiquement conservées à l'abri de la lumière pour ne pas tenir compte de la photo dégradation ,les résultats sont démontrés dans les tableaux suivants.

**Tableau XVIII :** Stabilité des solutions au réfrigérateur 24h

<b>Stabilité des solutions au réfrigérateur 24h</b>					
		<b>Aire / temps</b>	<b>Concentration/ temps</b>		<b>Dégradation/ temps</b>
		<b>T= 1jours</b>	<b>T=0jours</b>	<b>T=1jours</b>	<b>T=1jours</b>
<b>STD</b>	Solution 1	1364459	0,0563	0,0566	0,6
	Solution 2	1359036	0,0563	0,0564	0,1
	Solution 3	1362124	0,0563	0,0565	0,3
	<b>Moyenne</b>	1361873	0,0563	0,0565	0,4
<b>Placebo chargé</b>	Solution 1	1372319	0,0567	0,0569	0,4
	Solution 2	1363234	0,0564	0,0565	0,2
	Solution 3	1364840	0,0566	0,0566	0,1
	<b>Moyenne</b>	1366797,667	0,0566	0,0567	0,2

**Tableau XIX:** Stabilité des solutions a T° ambiante 24h

<b>Stabilité des solutions a T° ambiante 24h</b>					
		<b>Aire / temps</b>	<b>Concentration/ temps</b>		<b>Dégradation/ temps</b>
		<b>T= 1jours</b>	<b>T=0jours</b>	<b>T=1jours</b>	<b>T=1jours</b>
<b>STD</b>	Solution 1	1361169	0,0565	0,0565	0,4
	Solution 2	1364291	0,0565	0,0566	0,5
	Solution 3	1364875	0,0565	0,0566	0,5
	<b>Moyenne</b>	1363445	0,0565	0,0566	0,5
<b>Placebo chargé</b>	Solution 1	1380465	0,0567	0,0573	1,0
	Solution 2	1362570	0,0564	0,0565	0,1
	Solution 3	1351940	0,0566	0,0561	0,8
	<b>Moyenne</b>	1364991,667	0,0566	0,0566	0,7

**Tableau XX** : Stabilité des solutions au réfrigérateur 48h

<b>Stabilité des solutions au réfrigérateur 48h</b>					
		<b>Aire / temps</b>	<b>Concentration/ temps</b>		<b>Dégradation/ temps</b>
		<b>T= 2jours</b>	<b>T=0jours</b>	<b>T=2jours</b>	<b>T=2jours</b>
<b>STD</b>	Solution 1	1365400	0,0563	0,0565	0,5
	Solution 2	1364711	0, 0563	0,0565	0,4
	Solution 3	1367378	0, 0563	0,0566	0,6
	<b>Moyenne</b>	1365829,667	0, 0563	0,0566	0,5
<b>Placebo chargé</b>	Solution 1	1392085	0,0567	0,0577	1,7
	Solution 2	1364899	0,0564	0,0565	0,2
	Solution 3	1353596	0,0566	0,0561	0,9
	<b>Moyenne</b>	1370193,333	0, 0566	0,0567	0,9

**Tableau XXI:** Stabilité des solutions T° ambiante 48h

<b>Stabilité des solutions T° ambiante48h</b>					
		<b>Aire / temps</b>	<b>Concentration/ temps</b>		<b>Dégradation/ temps</b>
		<b>T= 2jours</b>	<b>T=0jour</b>	<b>T=2jour</b>	<b>T=2jour</b>
<b>STD</b>	Solution 1	1365400	0,0563	0,0565	0,5
	Solution 2	1364711	0, 0563	0,0565	0,4
	Solution 3	1367378	0, 0563	0,0566	0,6
	<b>Moyenne</b>	1365829,667	0, 0563	0,0566	0,5
<b>Placebo chargé</b>	Solution 1	1392085	0,0567	0,0577	1,7
	Solution 2	1364899	0,0564	0,0565	0,2
	Solution 3	1353596	0,0566	0,0561	0,9
	<b>Moyenne</b>	1370193,333	0, 0566	0,0567	0,9

**Tableau XXII : Stabilité des solutions au réfrigérateur 72h**

<b>Stabilité des solutions au réfrigérateur 72h</b>					
		<b>Aire / temps</b>	<b>Concentration/ temps</b>		<b>Dégradation/ temps</b>
		<b>T= 3jours</b>	<b>T=0jour s</b>	<b>T=3jours</b>	<b>T=3jours</b>
<b>STD</b>	Solution 1	1362841	0,0563	0,0566	0,6
	Solution 2	1358878	0, 0563	0,0564	0,2
	Solution 3	1364089	0, 0563	0,0566	0,6
	<b>Moyenne</b>	1361936	0, 0563	0,0566	0,5
<b>Placebo chargé</b>	Solution 1	1371976	0,0567	0,0570	0,5
	Solution 2	1364578	0,0564	0,0567	0,4
	Solution 3	1361648	0,0566	0,0565	0,0
	<b>Moyenne</b>	1366067,333	0,0566	0,0567	0,3

**Tableau XXIII: Stabilité des solutions a T° ambiante 72h**

<b>Stabilité des solutions a T° ambiante72h</b>					
		<b>Aire / temps</b>	<b>Concentration/ temps</b>		<b>Dégradation/ temps</b>
		<b>T= 1jour</b>	<b>T=0jour</b>	<b>T=1jour</b>	<b>T=1jour</b>
<b>STD</b>	Solution 1	1360239	0, 0563	0,0565	0,4
	Solution 2	1360892	0, 0563	0,0565	0,4
	Solution 3	1361993	0, 0563	0,0566	0,4
	<b>Moyenne</b>	1361041,333	0, 0563	0,0565	0,4
<b>Placebo chargé</b>	Solution 1	1391950	0,0567	0,0578	0,0
	Solution 2	1363715	0,0564	0,0566	0,3
	Solution 3	1350426	0,0566	0,0561	0,8
	<b>Moyenne</b>	1368697	0, 0566	0,0568	1,1

## 6.1. Stabilité des solutions au réfrigérateur

### - Critères d'acceptation

Les valeurs de  $x$  et  $Dt$  doivent être inférieure ou égal à 2,0%

Selon les critères d'acceptation les valeurs sont < à 2.0%

### -Interprétation

- La solution échantillon (placebo chargé) est stable pendant 72 heures à température ambiante sur la paillasse,
- la stabilité des solutions au réfrigérateur a été étudiée à 24h, 48h, 72h ; les résultats ont montrés que la solution échantillon est stable aux temps cités,
- La solution standard est stable pendant 72 heures à température ambiante et réfrigéré ; les résultats après 24h, 48h, 72h ont montré que la solution standard est stable pendant 3jours.

## 7. Robustesse

- la valeur 0 est comprise dans l'intervalle de confiance d'un paramètre, l'effet de ce paramètre pour les variations admises est non significatif sur la réponse obtenue. La méthode sera jugée robuste pour la variation du ce paramètre . dans le tableau les valeurs sont comprises dans l'intervalle de confiance les résultats de l'effet non significatif donc robuste.

L'étude de robustesse a montré que la méthode est robuste pour le changement des paramètres étudiés (teneur en principe actif, dédit et longueur d'onde).

**Tableau XXIV** : Calcul des effets de la robustesse

Résultat	Intervalle de confiance		Résultats de l'effet	Conclusion
B	-6,7	6,7	Non significatif	<b>Robuste</b>
C	-4,9	8,5	Non significatif	<b>Robuste</b>
AB	-6,7	6,7	Non significatif	<b>Robuste</b>
AC	-12,3	1 ,0	Non significatif	<b>Robuste</b>
BC	-6,7	6,7	Non significatif	<b>Robuste</b>
ABC	-6,7	6,7	Non significatif	<b>Robuste</b>

### 8. Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)

La limite de détection et de quantification ont été calculées et les résultats sont représentée dans le tableau suivant

**Tableau XXVI : Calcul de limite de détection et de quantification**

[C]théorique (Xi) en %	[C]réelle (Xi réel) en en (µg/ml)	Signal (Yi)	Y'	Yi-Yi'	Carré de Yi-Yi'	Xi- Xmoy	Carré de (Xi- Xmoy )	Carré de Xi
25	0,501	1161,000	1143,416	17,584	309,182	-0,980	0,961	0,251
	0, 501	1144,000	1143,416	0,584	0, 341	-0,980	0,961	0,251
	0, 501	1137,000	1143,416	-6,416	41,171	-0,980	0,961	0,251
40	0,893	1915,000	1959,283	-44,283	1961,007	-0,588	0,346	0,797
	0, 893	1900,000	1959,283	-59,283	3514,505	-0,588	0,346	0,797
	0, 893	1885,000	1959,283	-74,283	5518,002	-0,588	0,346	0,797
80	1,603	3580,000	3435,755	144,24 5	20806,524	0,122	0,015	2,569
	1,603	3559,000	3435,755	123,24 5	15189,248	0,122	0,015	2,569
	1,603	3530,000	3435,755	94,245	8882,057	0,122	0,015	2,569
100	2,004	4272,000	4269,488	2,512	6,309	0,523	0,273	4,014
	2,004	4229,000	4269,488	-40,488	1639,291	0,523	0,273	4,014
	2,004	4199,000	4269,488	-70,488	4968,581	0,523	0,273	4,014
120	2,404	5109,000	5101,723	7,277	52,948	0,923	0,852	5,778
	2,404	5071,000	5101,723	-30,723	943,933	0,923	0,852	5,778
	2,404	5038,000	5101,723	-63,723	4060,683	0,923	0,852	5,778
<b>Moyenn e Xi</b>	<b>1,481</b>	<b>Somme</b>			<b>67893,780</b>	<b>0,000</b>	<b>7,340</b>	<b>40,22 5</b>

A partir des résultats obtenus, une courbe de régression est tracée (figure 9) :

Hauteur du pic de l'impureté en fonction de la concentration de l'impureté.

Elle doit être une droite avec l'équation :

$$H = a X_i + b.$$

Où

- a : la pente de la droite.

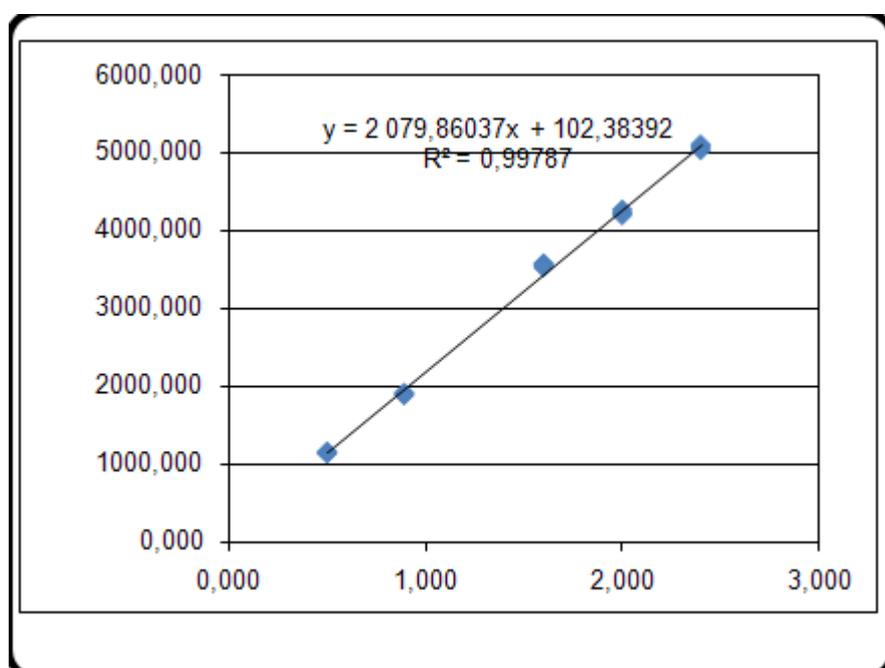
- b : ordonnée à l'origine

Le coefficient de corrélation R doit être  $\geq 0.9$

$$Y = aX + b$$

<b>A</b>	2079,860368
<b>B</b>	102,3839204
<b>N</b>	15
<b>Variance Y</b>	5222,598467

<b>Erreur sur l'ordonnée à l'origine</b>	43,68253224
<b>LOD (µg /ml)</b>	0,06930867
<b>LOQ (µg /ml)</b>	0,210026274



**Figure 19 :** Droite de la régression du signal en fonction de la concentration de l'analyte, (Limite de détection et quantification)

### Conclusion

Les résultats obtenus des paramètres étudiés « Conformité du système, Linéarité, Fidélité, Exactitude, stabilité des solutions, LOD/LOQ et robustesse » satisfont aux critères d'acceptation, il est conclu que la méthode d'identification, de dosage, et de recherche des substances apparentées est validée pour le PA comprimé pelliculée 50mg fabriqué à Biopharm.

L'acceptation d'une méthode analytique, quant à sa fiabilité, est généralement décidée sur la base du calcul des limites de confiance des mesures d'exactitude et l'estimation de sa fidélité au moyen du calcul des coefficients de variation.

Cette approche est, en fait, basée sur l'outil statistique comme un moyen d'analyse et de prise de décision en même temps.

La validation de procédé est devenue une partie de gestion stratégique de qualité et d'amélioration de performances ; tous ses avantages (pour les patients aussi bien que les fabricants) ont été reconnus et dorénavant, le défi est de trouver le juste niveau de validation rentable, sans sacrifier la sécurité des patients.

Pour valider la méthode de dosage par chromatographie liquide à haute performance, nous avons appliqués la stratégie basée sur l'étude des critères de la validation analytique selon les normes décrite dans la conférence internationale d'harmonisation (ICH).

L'objectif de cette étude a été d'effectuer une validation complète d'une méthode HPLC pour le dosage d'un médicament en forme de comprimé pelliculé de 50 mg.

Pour cela nous avons suivi deux étapes dont :

- ✓ La mise au point de la méthode analytique et optimisation des conditions opératoires à savoir, l'optimisation de la phase mobile, le choix de débit et de la longueur d'onde ;
- ✓ La validation analytique de la méthode : une fois la méthode mise au point, une vérification de la conformité du système HPLC qui nous renseigne sur son aptitude à effectuer l'analyse suivant des critères préétablis a été effectué ; puis une étude des critères de validation des méthodes analytiques à été effectué regroupant, la spécificité, linéarité, répétabilité, fidélité intermédiaire, exactitude, stabilité des solutions et en fin la robustesse.

La technique utilisée dans cette étude a rempli toutes les exigences et performances spécifiques pour le dosage du médicament en forme comprimé pelliculé, la chromatographie liquide à haute performance ; est spécifique, linéaire, exacte, fidèle et robuste ; ce qui atteste sa validité et son aptitude à être utilisée en routine pour le dosage des médicaments.

**ANONYME1. (1998).** Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques. Organisation Mondiale de la Santé. Recueil directives et autres documents (1). Geneve.278p.

**ANONYME2. (2013).** Procédure de validation et de vérification des méthodes analytiques. Document interne de biopharm.

**ANONYME3.(2005).**ICH Harmonised Tripartite Ludwig Huber. Validation and qualification in analytical laboratories.U.S.A.13p.

**ANONYME4. (2006).** Guide des Bonne pratique de fabrication (BPF) des médicaments, Programme d'appui au secteur de la Santé<sup>8<sup>eme</sup></sup> FED. Direction de la pharmacie et du médicament .76p.

**5. (1995)** .la qualité des médicaments sur le marché Pharmaceutique africain. programme d'action pour le médicament essentiel.OMS.76p

**ANONYME 6.(2012).** Les médicaments génériques : des médicaments à part entière . Rapport de l'agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de sante(ANSM).

**ANONYME 7 .(2006).** La réglementation pharmaceutique dans les pays francophones de la région africaine. Bureau régional de l'OMS pour l'Afrique, lettre d'information pharmaceutique, 1(3), 4.

**ANONYME 8.(2003).**, une réglementation pharmaceutique efficace : assurer l'innocuité, l'efficacité et la qualité des médicaments sur les perspective politique de L'OMS sur les médicament. Genève .Suisse.6p.

**ANONYME 9. (2015).**qu'est ce que la pharmacopée .agence nationale de sécurité des medicamens et des produits de santé. Pharmacopée française 11e édition.

**ANONYME 10. (2010).** HPLC Principe et appareillage. Ressource pédagogiques biochimie et biomoléculaire. Le site des enseignants de biochimie et génie biologiques. Biotec de Rouen.France.

**ANONYME 11 .(2010).** Utilisation et maintenance de la chaîne HPLC Waters Alliance avec le détecteur 2487 et le logiciel Empower 2.

**ANONYME12,(2012).** La définition du médicament, son autorisation de mise sur le marché et la pharmacovigilance, le gouvernement de grand-duché de Luxembourg, Ministère de la santé.

**BERTHILIR.(2013) .** La chromatographie et ses applications. édition DUNOD Paris.

**BOUKLI-HACENE.N. ,(2011).**le positionnement stratégique du médicament générique, Etude de cas : Analyse du positionnement du générique auprès du consommateur algérien, Université Abou-bekrbelkaïd, Algérie.173p.

**BOUKLOZE, A ; GIUA, KH. (2006).** Démarche statistique de la validation analytique dans le domaine pharmaceutique. Méthodologie et exemple politique Les technologies de laboratoire.1, Faculté de médecine, Rabat, Maroc. 1(1).

**CLEVE.(2009).** Formalisation du système qualité de la pharmacie a usage intérieur d'un Établissement gériatrique. Etude spécialisées en pharmacie hospitalière et des collectivités.

**DESCHAMPS.(2005).** Qualification des sources d'approvisionnement en médicament essentiel générique. Application en pays en développement. Thèse de doctorat en pharmacie. France.185p.

**FLANGAN.RJ;PERRETT.D and WHLPTON.R (2005).** Electrochemical detection in HPLC.Analysis of drog and poisons.RSC Chromatography monographs.225p.

**FEINBERG M., BOULANGER B., DEWE W., HUBERT PH.( 2004).** New advances in method validation and measurement uncertainty aimed at improving the quality of chemical data. *Analytical and Bioanalytical chemistry*, 380, 502 – 514.

**FRAGNIÈRE,( 2008).**Analyse instrumentale organique, HPLC.15P.

**HAMMOUMI . (2014).** Mise à Niveau du Système Qualité d'une Unité de Production de Formes Sèches (Antibiotiques Bétalactamines) l'assurance qualité dans l'industrie pharmaceutique. Université Abou Bekr BELKAID Tlemcen 51p.

**KILADJIAN.(2011).**Les phases de développement clinique d'un nouveau médicament. centre d'investigations cliniques.Paris.79p.

**KOSTARMOL.A.V ; GOLUBITSKII G. B ; BASOVA E. M ; BUDKO E. V. IVANOV V. M. (2008).**High-Performance Liquid Chromatography in the Analysis of Multicomponent Pharmaceutical Preparations. *Analytical Chemistry, Journal of Analytical Chemistry* (63).Russia. 516p.

**MANSOURI.(2008).**Réglementation qualité et problématique des médicaments- l expérience algérienne. Conférence sur le système de sante en afrique.de 28-30 avril ouagdougou.

**MENDHAM J;DENNEY.R.C ; BORNES.J.D;AND TOMASM.G.K(2006).** Analyse chimique quantitative de Vogel.6<sup>ème</sup> Edition .Londres.

**NICOLAS.O; FARENC.CH; BRESSOLLE.F. (2004).** Stratégie de validation de méthodes de dosage en bioanalyse en vue d'études pharmacocinétiques et toxicologiques . volume 16. Paris.127p

**NORMAND TREMBLAY.(2006).**Etude de pratique de gestion de projet des entreprises de biotechnologies développement de nouveaux médicaments au Québec. Thèse de doctorat the drug développement process. Université trois rivières. Québec.

**PRADEAU. (1992).** Analyse pratique du médicament .Edition internationale. Technique et document. Lavoisier, Paris.1068 p.

**RAVELONA.(2003).** journal technologique ; traçabilité :la révolution des étiquettes intelligentes. Contrôle qualité des produits pharmaceutiques del'O.FA.FA , Sirop antihistaminique et antitussif, Sirop complexe vitaminé. Thèse de doctorat en chimie analytique .Département de chimie minérale et de chimie physique. Faculté des sciences. Université d'antananarivo. Afrique.135p.

**RAYNANUD (2011).**Validation du procédé de fabrication dans l'industrie Pharmaceutique, appliquée aux formes solides orales. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de Pharmacie, Université de LIMOGES . Paris.

**ROUESSAC.A et ROUESSAC.F .(2009).**Analyse chimique: method et technique instrumentales moderne.6Edition Dunod.Paris.457p..

**SHABIR.G.(2003).**Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation

requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. Journal of chromatography.U.S.A.66p.

**SKOOG.D; WEST.F; HOLLER.J and DOUGLAS. A. (1997).** Chimie analytique.7<sup>ème</sup>  
Edition de Boeck .Bruxelles. p 812.

**TALBERT. M; WILLOQUET ;G, GUERVAIS. R. (2012) .** Guide pharmaco-étudiants et professionnels paramédicaux, 10<sup>ème</sup> édition. Paris.

**TIABI.A ET TIRES. (2014).**Mise au point et optimisation d'une méthode de dosage d'une forme pharmaceutique suppositoire par l'HPLC. Thèse de doctorat en pharmacie, département de pharmacie, faculté de médecine, U.M.M.T.O.Algérie.57p.

**VERONIQUE JACOB.( 2010).** La chromatographie liquide a haute performance.IUT de chimie de Grenoble.45p

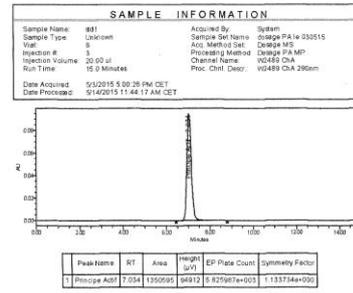
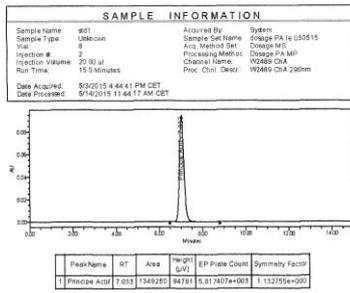
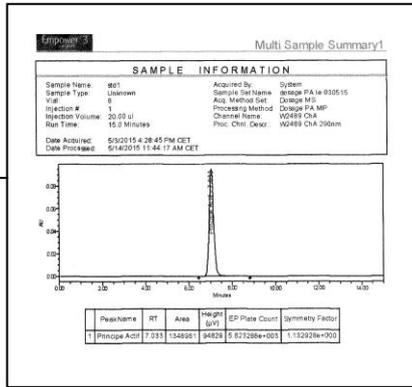
**VIAL. J. (2006).** Définition de la validation de méthode et outils associés. Laboratoire Environnement et Chimie Analytique de l'ESPCI .Journée de Formation Scientifique en Spectrométrie Atomique 14 Novembre - Paris.

**YURI. K, ROSARIO. L.(2007)..**HPLC for pharmaceutical scientists, by john wiley & sons,Hoboken.inc.NEW .JERSEY.835p.

**ZOUANT.Z.(2013).**L'accès aux médicaments en Algérie : une ambiguïté entre des brevets des multinationales et le marché du générique. thèse de doctorat Faculté des sciences économiques, Université Hassiba Ben Bouali de chlef, Algérie.407p

**I. Chromatogrammes des paramètres :  
Conformité du système et Spécificité**

# La conformité du système :



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2337  
 Page: 1 of 6

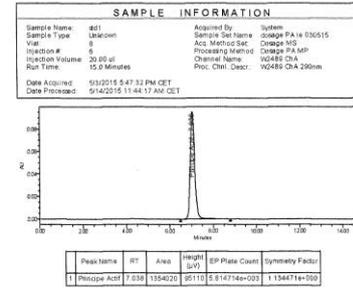
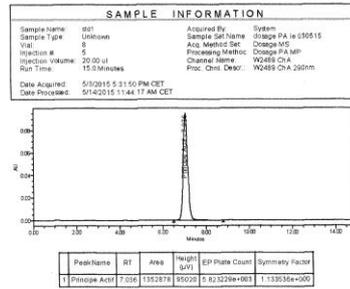
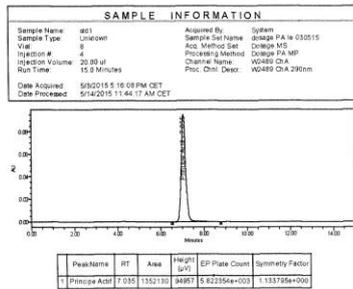
Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 4:10:50 PM Alkacab@cent

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2337  
 Page: 2 of 6

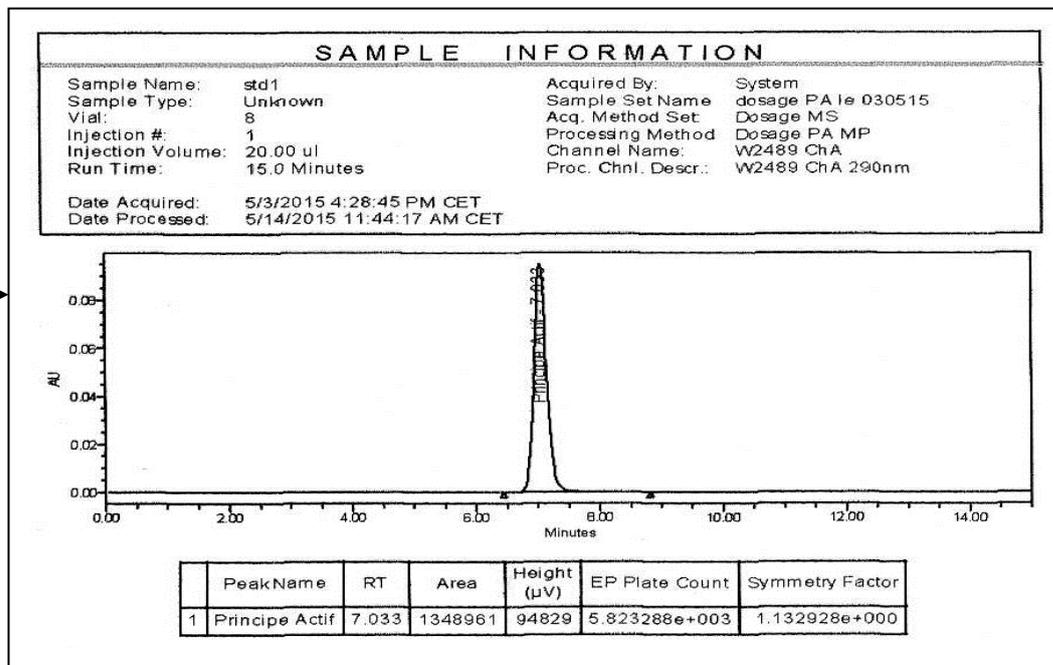
Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 4:10:53 PM Alkacab@cent

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2337  
 Page: 3 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 4:10:50 PM Alkacab@cent

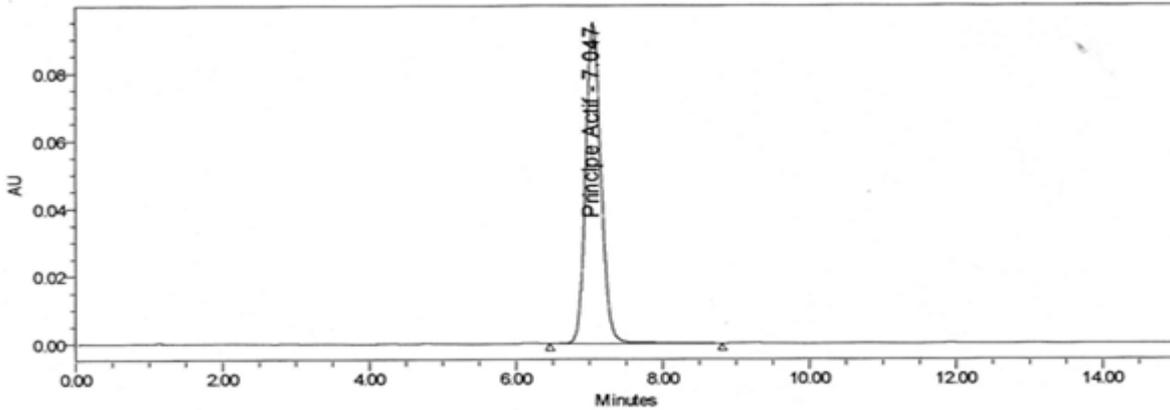


## Chromatogramme de Standard 01(06 injections)



### SAMPLE INFORMATION

Sample Name: PC M1 Ech1	Acquired By: System	Sample Set Name: dosage PA le 030515
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 030515	Acq. Method Set: Dosage MS
Vial: 11	Acq. Method Set: Dosage MS	Processing Method: Dosage PA MP
Injection #: 1	Processing Method: Dosage PA MP	Channel Name: W2489 ChA
Injection Volume: 20.00 ul	Channel Name: W2489 ChA	Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm
Run Time: 15.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm	
Date Acquired: 5/3/2015 7:37:34 PM CET		
Date Processed: 5/14/2015 11:58:30 AM CET		

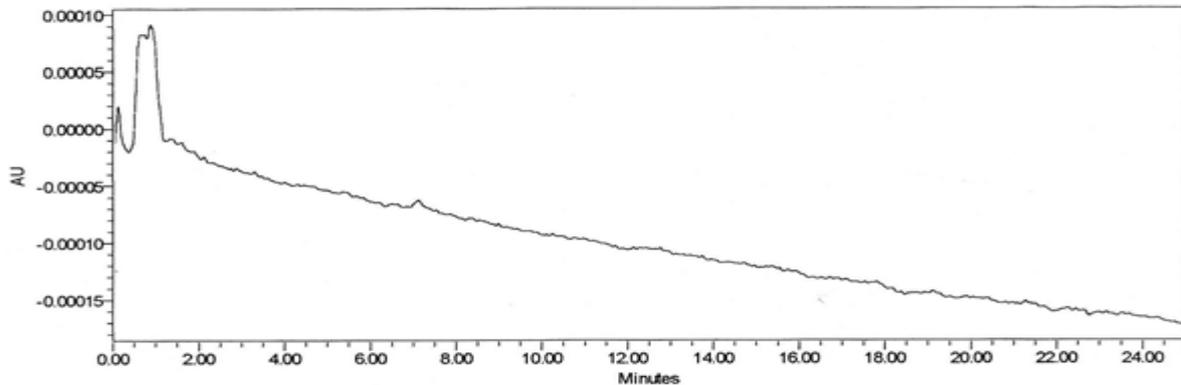


Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.047	1359276	94957	5.775964e+003	1.133132e+000

**Chromatogramme de Principe Actif**

### SAMPLE INFORMATION

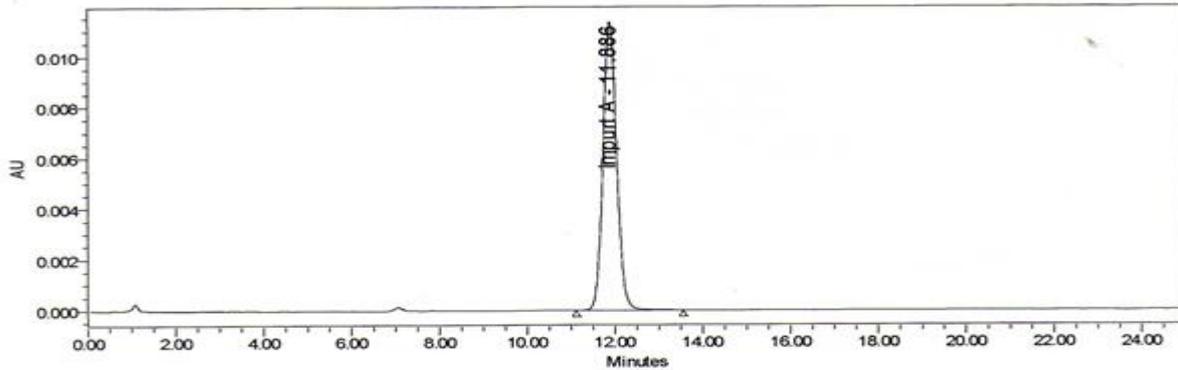
Sample Name: blanc	Acquired By: System	Sample Set Name: dosage PA le 030515
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 030515	Acq. Method Set: Dosage MS
Vial: 1	Acq. Method Set: Dosage MS	Processing Method: Dosage PA MP
Injection #: 1	Processing Method: Dosage PA MP	Channel Name: W2489 ChA
Injection Volume: 20.00 ul	Channel Name: W2489 ChA	Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm
Run Time: 25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm	
Date Acquired: 5/3/2015 11:54:06 AM CET		
Date Processed: 5/17/2015 3:00:09 PM CET		



PeakName	RT
1 Principe Actif	7.220

**Chromatogramme de La phase mobile : le blanc**

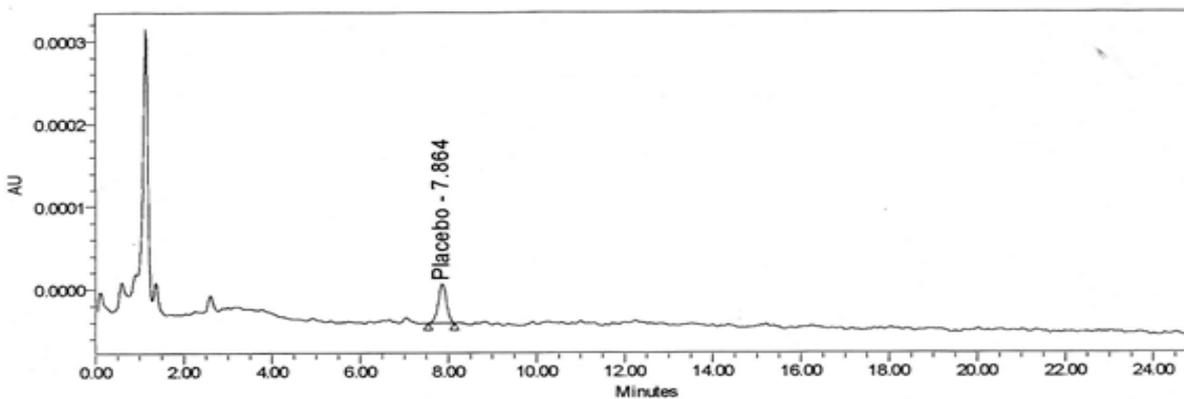
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	sol impurete A	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name	dosage PA le 030515
Vial:	5	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method	imp A MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/3/2015 2:55:26 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 4:10:02 PM CET		



	Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	impurt A	11.886	245424	11400	7.260156e+003	1.080344e+000

Chromatogramme de l'impureté principale

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	sol placebo (2)	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name	dosage PA le 030515
Vial:	3	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method	mp placebo
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/3/2015 1:37:40 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 4:19:25 PM CET		

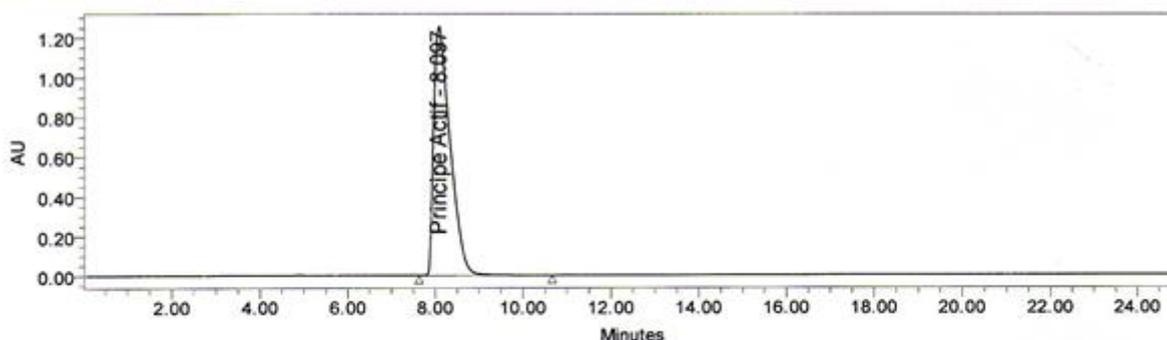


	Peak Name	RT	Area	Height (µV)
1	Placebo	7.864	609	47

Chromatogramme : Placebo

**Chromatogrammes de la dégradation forcée :Acide ,Témoin ,Oxydant .Humidité et Température**

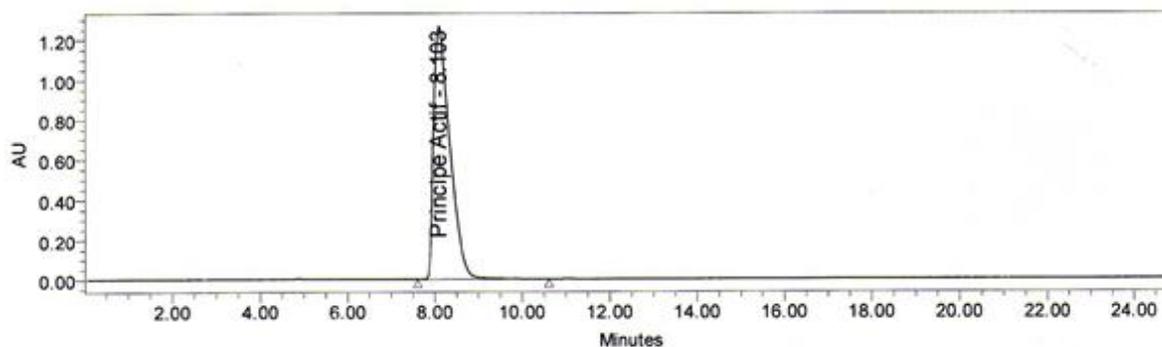
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	photolyse echantillon	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	15	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 20:23:00 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:36:54 CET		



Peak Name	RT	Area	Height
1 Principe Actif	8.097	33237342	1256547

**Chromatogramme de la dégradation forcée : photolyse**

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	echantillon oxydativ	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	17	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 21:15:12 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:36:54 CET		

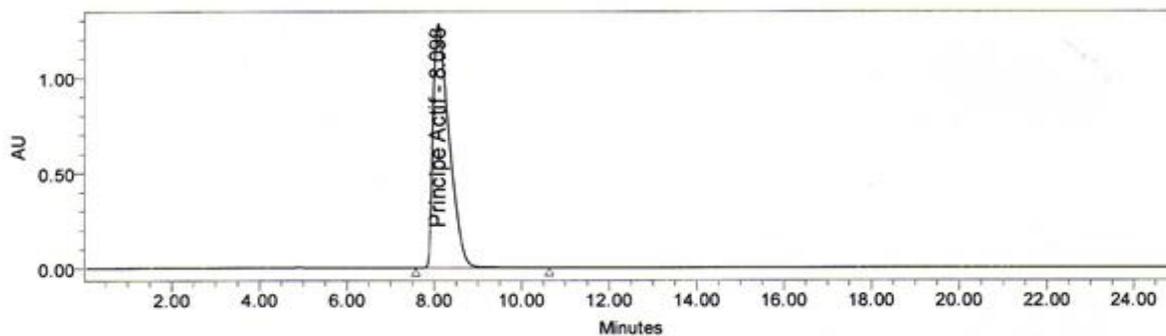


Peak Name	RT	Area	Height
1 Principe Actif	8.103	33464748	1267117

**Chromatogramme de la dégradation forcée : oxydative**

### SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	echantillon chaleur	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	16	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired: 11/05/2015 20:49:07 CET			
Date Processed: 19/05/2015 09:36:54 CET			

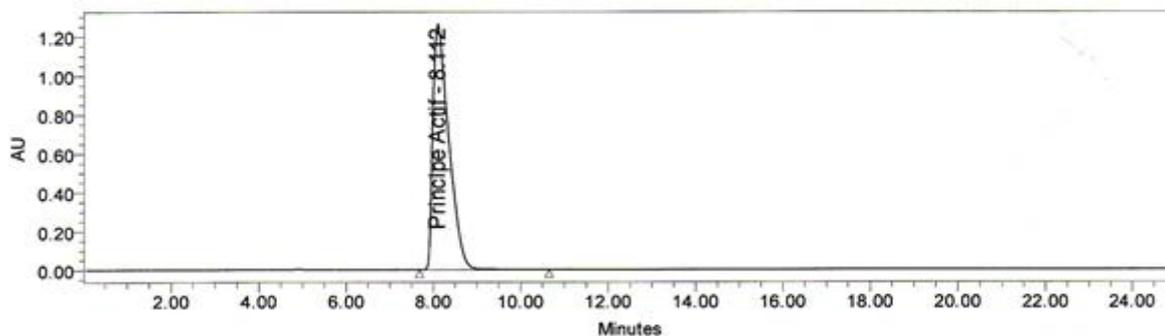


	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.098	33374415	1281968

**Chromatogramme de la dégradation forcée : chaleur**

### SAMPLE INFORMATION

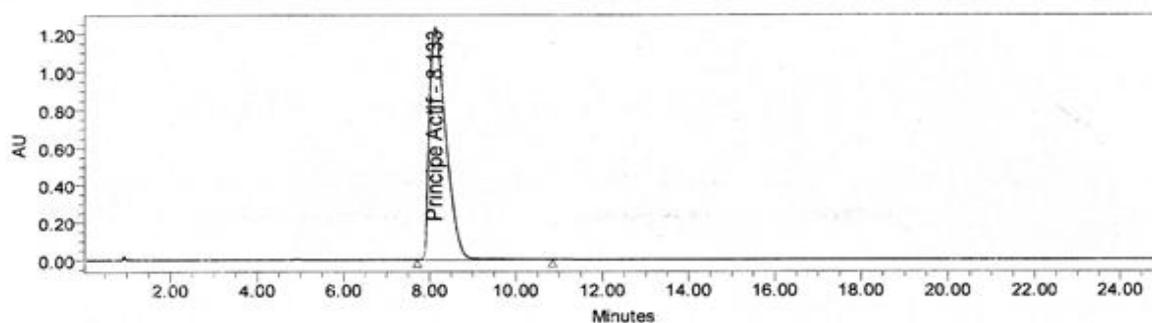
Sample Name:	echantillon humide	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	20	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired: 11/05/2015 21:41:18 CET			
Date Processed: 19/05/2015 09:36:54 CET			



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.112	32533727	1261433

**Chromatogramme de la dégradation forcée : humidité**

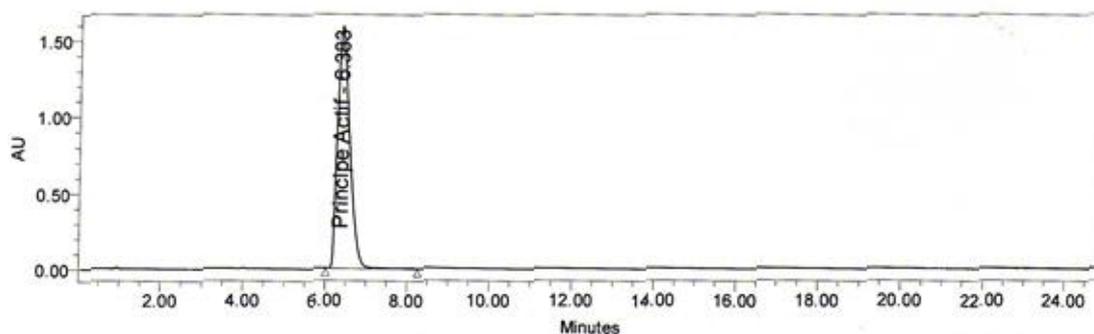
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	echantillon alcalin	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 110515
Vial:	21	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	11/05/2015 22:07:24 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:48:07 CET		



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	8.133	33213798	1235953

**Chromatogramme de la dégradation forcée : alcalin**

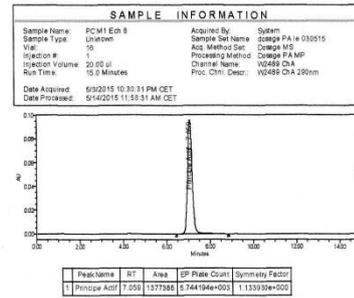
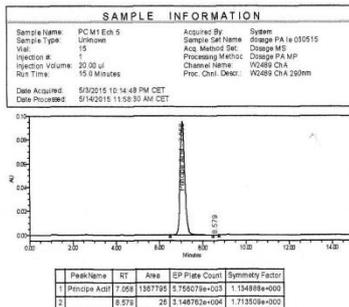
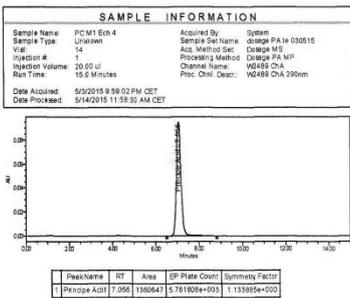
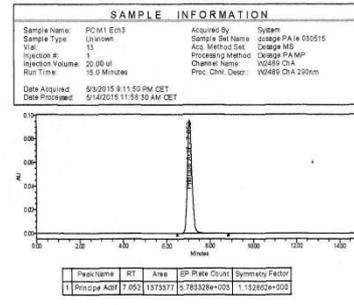
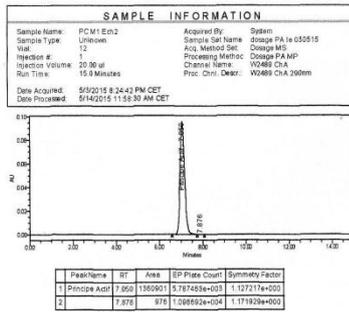
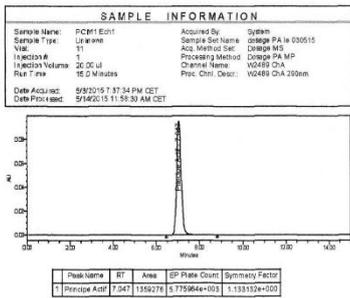
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	echantillon acide	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA SS 130515
Vial:	22	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	impuretes 120515 PM
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	25.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.0 nm
Date Acquired:	13/05/2015 18:16:12 CET		
Date Processed:	19/05/2015 09:57:00 CET		



	Peak Name	RT	Area	Height
1	Principe Actif	6.383	33098820	1589336

**Chromatogrammes de de la dégradation forcée : Acide**

## **II. Chromatogramme des paramètres : Répétabilité et fidélité intermédiaire**



## Chromatogram des paramètres : Répétabilité et fidélité intermédiaire jour 01série01

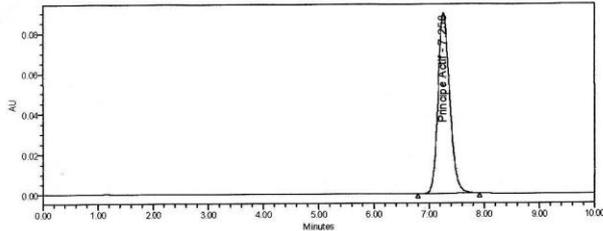
**Component Summary For Retention Time**  
 Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC M1 Ech1	1	W2489 ChA	11	7.047
2	PC M1 Ech2	1	W2489 ChA	12	7.050
3	PC M1 Ech3	1	W2489 ChA	13	7.052
4	PC M1 Ech 4	1	W2489 ChA	14	7.056
5	PC M1 Ech 5	1	W2489 ChA	15	7.058
6	PC M1 Ech 6	1	W2489 ChA	16	7.059
Mean					7.054
Std. Dev.					0.005
% RSD					0.1

**Component Summary For Area**  
 Channel: W2489 ChA

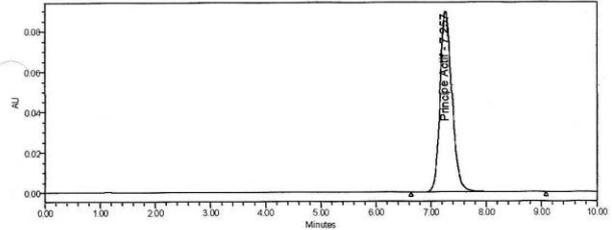
	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC M1 Ech1	1	W2489 ChA	11	1359276
2	PC M1 Ech2	1	W2489 ChA	12	1360901
3	PC M1 Ech3	1	W2489 ChA	13	1373377
4	PC M1 Ech 4	1	W2489 ChA	14	1360647
5	PC M1 Ech 5	1	W2489 ChA	15	1367795
6	PC M1 Ech 6	1	W2489 ChA	16	1377386
Mean					1366564
Std. Dev.					7553
% RSD					0.6

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech1 100% M1J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	7	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 5:51:29 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



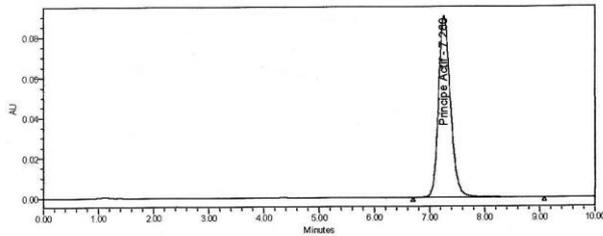
PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.258	1345686	5.590970e+003	1.159125e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech2 100% M1J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	8	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 6:02:27 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



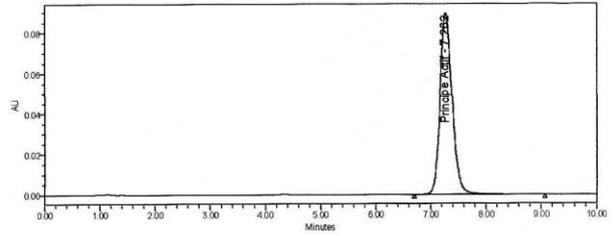
PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.257	1354052	5.583040e+003	1.167019e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech3 100% M1J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	9	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 6:13:23 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.260	1366011	5.579411e+003	1.165824e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech4 100% M1J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	10	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 6:24:19 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.262	1352859	5.592415e+003	1.164432e+000

## Chromatogramme des paramètres : Répétabilité et fidélité intermédiaire jour 01série02

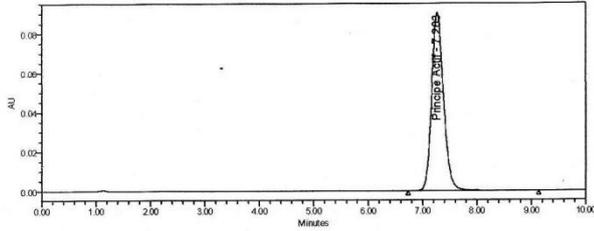
Component Summary For Retention Time  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC ch ech1 100% M1J2	1	W2489 ChA	7	7.258
2	PC ch ech2 100% M1J2	1	W2489 ChA	8	7.257
3	PC ch ech3 100% M1J2	1	W2489 ChA	9	7.260
4	PC ch ech4 100% M1J2	1	W2489 ChA	10	7.262
Mean					7.259
Std. Dev.					0.002
% RSD					0.0

Component Summary For Area  
Channel: W2489 ChA

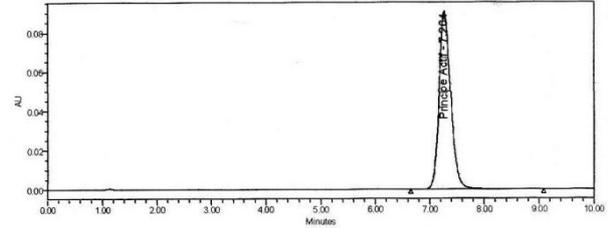
	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC ch ech1 100% M1J2	1	W2489 ChA	7	1345686
2	PC ch ech2 100% M1J2	1	W2489 ChA	8	1354052
3	PC ch ech3 100% M1J2	1	W2489 ChA	9	1366011
4	PC ch ech4 100% M1J2	1	W2489 ChA	10	1352859
Mean					1354652
Std. Dev.					8426
% RSD					0.6

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech1 100% M2J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	25	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 6:35:45 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



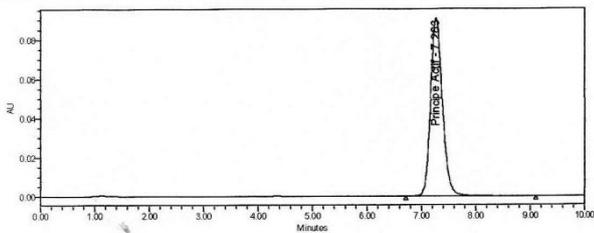
Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.263	1366147	5.599130e+003	1.163127e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech2 100% M2J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	26	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 6:46:42 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



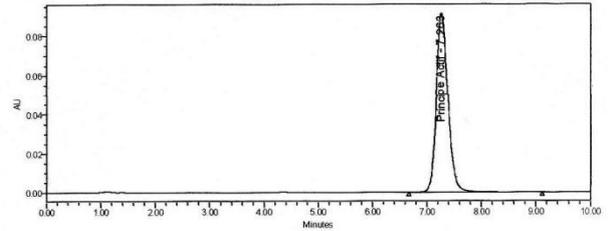
Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.264	1368605	5.598037e+003	1.163306e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech3 100% M2J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	27	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 6:57:37 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.263	1372860	5.591383e+003	1.161320e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC ch ech4 100% M2J2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	28	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 7:08:34 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 1:58:06 PM CET		



Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.263	1380287	5.583772e+003	1.162039e+000

## Chromatogramme des paramètres : Répétabilité et fidélité intermédiaire jour02 série02

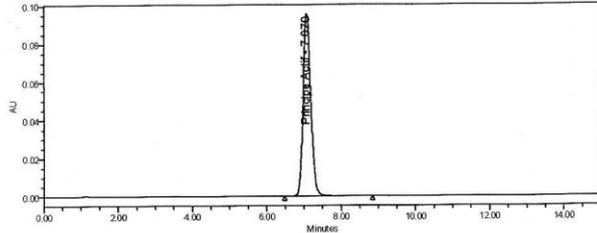
Component Summary For Retention Time  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC ch ech1 100% M2J2	1	W2489 ChA	25	7.263
2	PC ch ech2 100% M2J2	1	W2489 ChA	26	7.264
3	PC ch ech3 100% M2J2	1	W2489 ChA	27	7.263
4	PC ch ech4 100% M2J2	1	W2489 ChA	28	7.263
Mean					7.263
Std. Dev.					0.001
% RSD					0.0

Component Summary For Area  
Channel: W2489 ChA

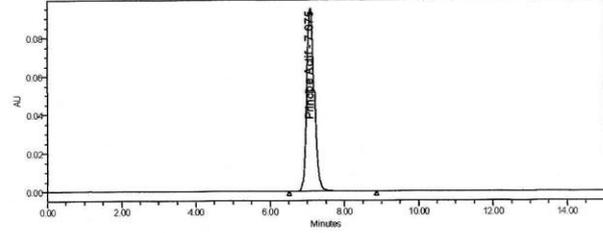
	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC ch ech1 100% M2J2	1	W2489 ChA	25	1366147
2	PC ch ech2 100% M2J2	1	W2489 ChA	26	1368605
3	PC ch ech3 100% M2J2	1	W2489 ChA	27	1372860
4	PC ch ech4 100% M2J2	1	W2489 ChA	28	1380287
Mean					1371975
Std. Dev.					6197
% RSD					0.5

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC M2 ECH1	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 030515
Vial:	21	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	15.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/4/2015 12:04:53 AM CET		
Date Processed:	5/14/2015 11:58:48 AM CET		



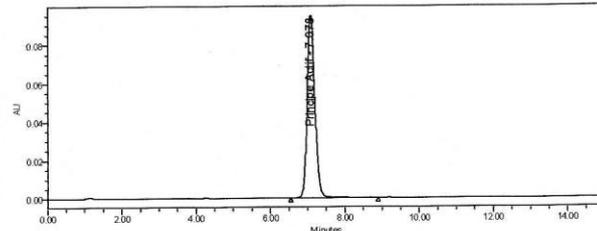
Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.070	1371874	5.813169e+003	1.133083e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC M2 ECH2	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 030515
Vial:	22	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	15.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/4/2015 12:20:35 AM CET		
Date Processed:	5/14/2015 11:58:49 AM CET		



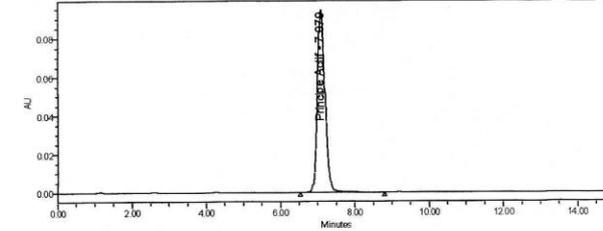
Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.075	1362111	5.795009e+003	1.134673e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC M2 ECH3	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 030515
Vial:	23	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	15.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/4/2015 12:36:18 AM CET		
Date Processed:	5/14/2015 11:58:49 AM CET		



Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.078	1362742	5.808058e+003	1.134137e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PC M2 ECH4	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 030515
Vial:	24	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	15.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/4/2015 12:52:01 AM CET		
Date Processed:	5/14/2015 11:58:49 AM CET		



Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.079	1356186	5.816708e+003	1.133896e+000

### Chromatogramme des paramètres : Répétabilité et fidélité intermédiaire jour 02série01

Component Summary For Retention Time  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC M2 ECH1	1	W2489 ChA	21	7.070
2	PC M2 ECH2	1	W2489 ChA	22	7.075
3	PC M2 ECH3	1	W2489 ChA	23	7.078
4	PC M2 ECH4	1	W2489 ChA	24	7.079
Mean					7.075
Std. Dev.					0.004
% RSD					0.1

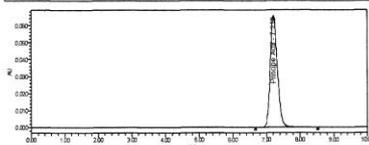
Component Summary For Area  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC M2 ECH1	1	W2489 ChA	21	1371874
2	PC M2 ECH2	1	W2489 ChA	22	1362111
3	PC M2 ECH3	1	W2489 ChA	23	1362742
4	PC M2 ECH4	1	W2489 ChA	24	1356186
Mean					1363228
Std. Dev.					6476
% RSD					0.5

### **III. Chromatogrammes des paramètres : Linéarité**

Empower 3 Multi Sample Summary1

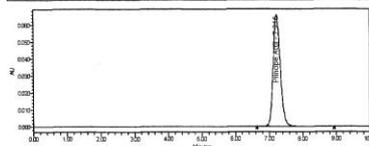
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name: linearite std 70%	Acquired By: System
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 040515
Vial: 5	Acq. Method Set: Dosage MS
Injection #: 1	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume: 20.00 µl	Channel Name: W2489 ChA
Run Time: 10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr: W2489 ChA 290nm
Date Acquired: 5/6/2015 2:43:00 PM CET	
Date Processed: 5/17/2015 9:00:58 AM CET	



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prncepe Actif	7.216	958368	5.631194e+003	1.131571e+000

Reported by User: System Project Name: Prncepe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (C2009) 9:01:49 AM Africa/Aigden  
 Page 1 of 6

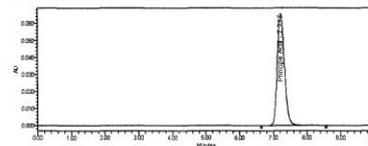
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name: linearite std 70%	Acquired By: System
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 040515
Vial: 5	Acq. Method Set: Dosage MS
Injection #: 2	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume: 20.00 µl	Channel Name: W2489 ChA
Run Time: 10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr: W2489 ChA 290nm
Date Acquired: 5/6/2015 2:53:56 PM CET	
Date Processed: 5/17/2015 9:00:58 AM CET	



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prncepe Actif	7.216	959636	5.812569e+003	1.132781e+000

Reported by User: System Project Name: Prncepe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (C2009) 9:01:40 AM Africa/Aigden  
 Page 2 of 6

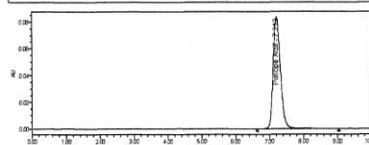
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name: linearite std 70%	Acquired By: System
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 040515
Vial: 5	Acq. Method Set: Dosage MS
Injection #: 3	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume: 20.00 µl	Channel Name: W2489 ChA
Run Time: 10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr: W2489 ChA 290nm
Date Acquired: 5/6/2015 3:04:52 PM CET	
Date Processed: 5/17/2015 9:00:58 AM CET	



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prncepe Actif	7.217	959932	5.797054e+003	1.132764e+000

Reported by User: System Project Name: Prncepe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (C2009) 9:01:40 AM Africa/Aigden  
 Page 3 of 6

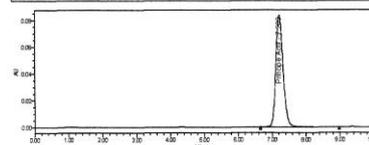
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name: linearite std 90%	Acquired By: System
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 040515
Vial: 6	Acq. Method Set: Dosage MS
Injection #: 1	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume: 20.00 µl	Channel Name: W2489 ChA
Run Time: 10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr: W2489 ChA 290nm
Date Acquired: 5/6/2015 3:15:48 PM CET	
Date Processed: 5/17/2015 9:00:58 AM CET	



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prncepe Actif	7.212	1224281	5.358922e+003	1.142071e+000

Reported by User: System Project Name: Prncepe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (C2009) 9:01:40 AM Africa/Aigden  
 Page 4 of 6

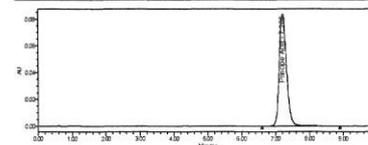
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name: linearite std 90%	Acquired By: System
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 040515
Vial: 6	Acq. Method Set: Dosage MS
Injection #: 2	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume: 20.00 µl	Channel Name: W2489 ChA
Run Time: 10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr: W2489 ChA 290nm
Date Acquired: 5/6/2015 3:26:43 PM CET	
Date Processed: 5/17/2015 9:00:58 AM CET	



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prncepe Actif	7.209	1224823	5.728097e+003	1.141512e+000

Reported by User: System Project Name: Prncepe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (C2009) 9:01:40 AM Africa/Aigden  
 Page 5 of 6

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name: linearite std 90%	Acquired By: System
Sample Type: Unknown	Sample Set Name: dosage PA le 040515
Vial: 6	Acq. Method Set: Dosage MS
Injection #: 3	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume: 20.00 µl	Channel Name: W2489 ChA
Run Time: 10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr: W2489 ChA 290nm
Date Acquired: 5/6/2015 3:37:38 PM CET	
Date Processed: 5/17/2015 9:00:58 AM CET	



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prncepe Actif	7.206	1224848	5.729755e+003	1.141543e+000

Reported by User: System Project Name: Prncepe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (C2009) 9:01:40 AM Africa/Aigden  
 Page 6 of 6

Component Summary For Retention Time  
 Channel: W2489 ChA

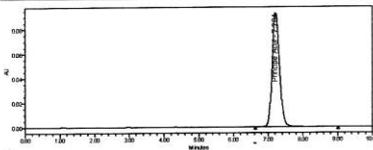
	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Prncepe Actif
1	linearite std 70%	1	W2489 ChA	5	7.218
2	linearite std 70%	2	W2489 ChA	5	7.216
3	linearite std 70%	3	W2489 ChA	5	7.217
4	linearite std 90%	1	W2489 ChA	6	7.212
5	linearite std 90%	2	W2489 ChA	6	7.209
6	linearite std 90%	3	W2489 ChA	6	7.206
Mean					7.213
Std. Dev.					0.005
% RSD					0.1

Component Summary For Area  
 Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Prncepe Actif
1	linearite std 70%	1	W2489 ChA	5	958368
2	linearite std 70%	2	W2489 ChA	5	959836
3	linearite std 70%	3	W2489 ChA	5	958932
4	linearite std 90%	1	W2489 ChA	6	1224281
5	linearite std 90%	2	W2489 ChA	6	1224823
6	linearite std 90%	3	W2489 ChA	6	1224646
Mean					1091814
Std. Dev.					145442
% RSD					13.3

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 100% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 3 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 1 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 3:48:38 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:02:58 AM CET

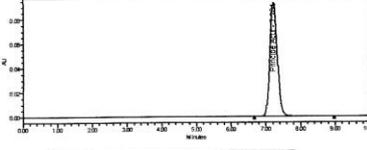


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.254	1.376500	5.176603e+003	1.148103e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 2 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 100% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 3 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 2 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 3:59:34 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET

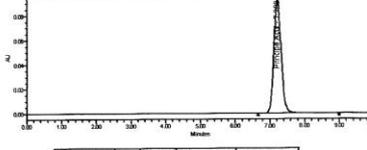


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.254	1.372896	5.711734e+003	1.148698e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 2 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 100% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 3 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 3 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 4:10:31 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET

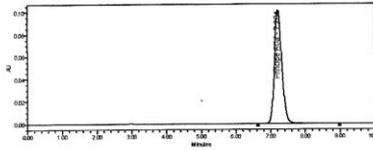


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.202	1.371206	5.705644e+003	1.150422e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 3 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 110% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 8 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 1 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 4:21:20 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET

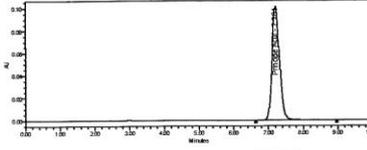


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.204	1.435090	5.073447e+003	1.154645e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 4 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 110% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 8 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 2 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 4:32:23 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET

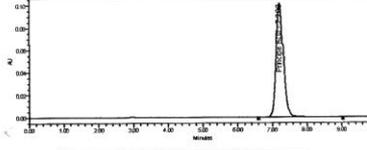


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.201	1.494302	5.658348e+003	1.155447e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 5 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 110% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 8 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 3 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 4:43:18 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET

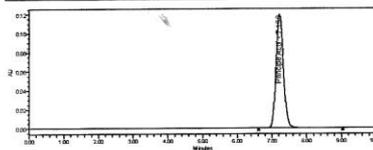


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.203	1.469634	5.608130e+003	1.163091e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 6 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 130% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 9 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 1 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 4:54:15 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET

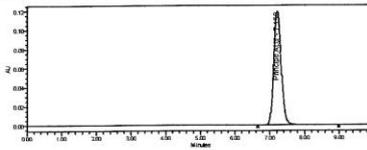


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.199	1.773240	5.612817e+003	1.166914e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 7 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 130% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 9 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 2 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 5:05:10 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET

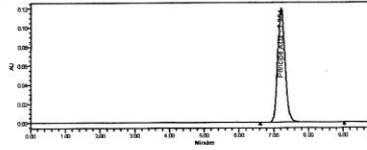


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.199	1.774309	5.602244e+003	1.168159e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 8 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

**SAMPLE INFORMATION**

Sample Name: lineate s# 130% Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA le 040515  
 Vial: 9 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection # 3 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 ul Channel Name: W0489 C0A  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr: W0489 C0A 290nm  
 Date Acquired: 5/4/2015 5:16:05 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:00:56 AM CET



Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act1	7.201	1.777460	5.591894e+003	1.167649e+000

Reported by User: System Project Name: Principle Act1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method: Multi Sample Summary1 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method ID: 2009 Page: 9 of 3  
 9:01:58 AM Africa/Abidjan

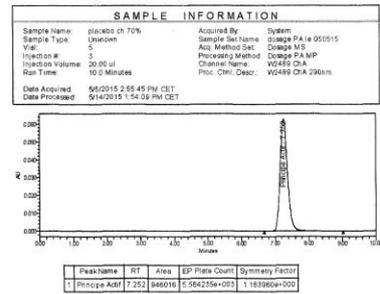
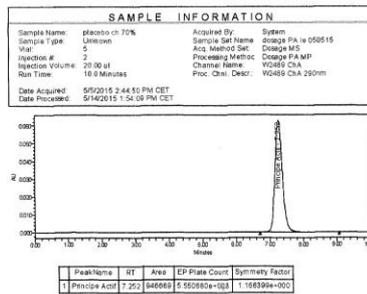
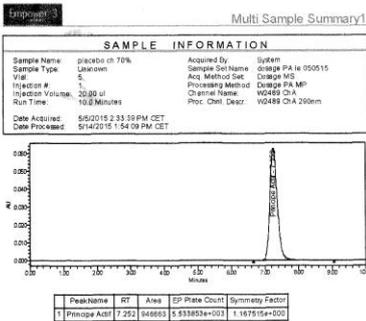
**Component Summary For Retention Time**  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	linearite std 100%	1	W2489 ChA	3	7.204
2	linearite std 100%	2	W2489 ChA	3	7.204
3	linearite std 100%	3	W2489 ChA	3	7.202
4	linearite std 110%	1	W2489 ChA	8	7.204
5	linearite std 110%	2	W2489 ChA	8	7.201
6	linearite std 110%	3	W2489 ChA	8	7.203
7	linearite std 130%	1	W2489 ChA	9	7.199
8	linearite std 130%	2	W2489 ChA	9	7.199
9	linearite std 130%	3	W2489 ChA	9	7.201
Mean					7.202
Std. Dev.					0.002
% RSD					0.0

**Component Summary For Area**  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	linearite std 100%	1	W2489 ChA	3	1370509
2	linearite std 100%	2	W2489 ChA	3	1372896
3	linearite std 100%	3	W2489 ChA	3	1371206
4	linearite std 110%	1	W2489 ChA	8	1495890
5	linearite std 110%	2	W2489 ChA	8	1494952
6	linearite std 110%	3	W2489 ChA	8	1496634
7	linearite std 130%	1	W2489 ChA	9	1773240
8	linearite std 130%	2	W2489 ChA	9	1774969
9	linearite std 130%	3	W2489 ChA	9	1777465
Mean					1547529
Std. Dev.					179056
% RSD					11.6

**Chromatogramme des paramètres : Linéarité sur standard**



Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method ID: 2209  
Page 2 of 6

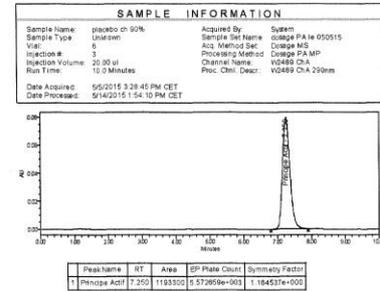
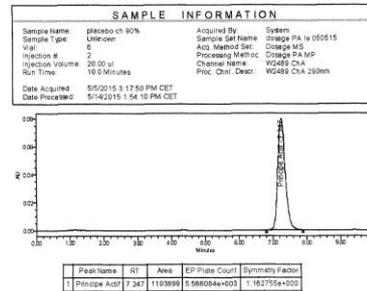
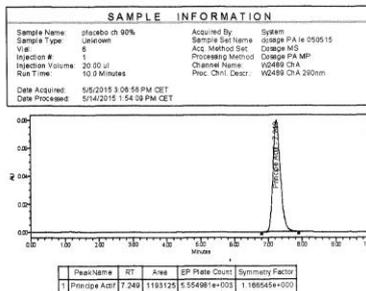
Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/14/2015  
1:54:41 PM Africa/Algiers

Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method ID: 2209  
Page 2 of 6

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/14/2015  
1:54:41 PM Africa/Algiers

Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method ID: 2209  
Page 3 of 6

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/14/2015  
1:54:41 PM Africa/Algiers



Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method ID: 2209  
Page 4 of 6

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/14/2015  
1:54:41 PM Africa/Algiers

Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method ID: 2209  
Page 4 of 6

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/14/2015  
1:54:41 PM Africa/Algiers

Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method ID: 2209  
Page 6 of 6

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/14/2015  
1:54:41 PM Africa/Algiers

**Component Summary For Retention Time**  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	placebo ch 70%	1	W2489 ChA	5	7.252
2	placebo ch 70%	2	W2489 ChA	5	7.252
3	placebo ch 70%	3	W2489 ChA	5	7.252
4	placebo ch 90%	1	W2489 ChA	6	7.249
5	placebo ch 90%	2	W2489 ChA	6	7.247
6	placebo ch 90%	3	W2489 ChA	6	7.250
Mean					7.250
Std. Dev.					0.002
% RSD					0.0

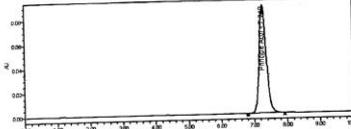
**Component Summary For Area**  
Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	placebo ch 70%	1	W2489 ChA	5	946663
2	placebo ch 70%	2	W2489 ChA	5	946669
3	placebo ch 70%	3	W2489 ChA	5	946016
4	placebo ch 90%	1	W2489 ChA	6	1193125
5	placebo ch 90%	2	W2489 ChA	6	1193899
6	placebo ch 90%	3	W2489 ChA	6	1193300
Mean					1069945
Std. Dev.					135283
% RSD					12.6

**Chromatogramme de : Linéarité sur placebo chargé**

Multi Sample Summary1

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 100%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	7
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 8:59:42 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

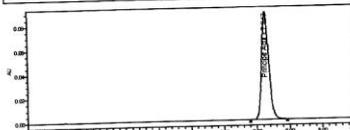


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.24	1341651	5.95999e+003	1.170782e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 1 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 100%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	7
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 9:02:03 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

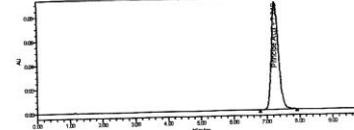


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.241	1365450	5.972413e+003	1.169297e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 2 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 100%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	3
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 4:01:49 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

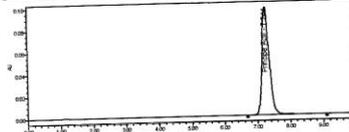


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.245	1339919	5.972504e+003	1.168246e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 3 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 110%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	11
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 4:12:47 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

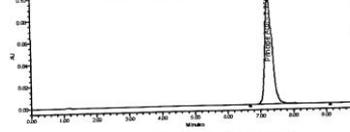


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.244	1487208	5.944035e+003	1.183205e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 4 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 110%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	11
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 4:03:41 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

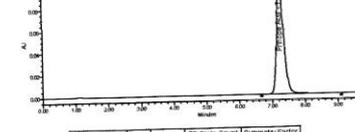


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.245	1486193	5.968229e+003	1.184313e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 5 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 110%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	5
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 4:34:37 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

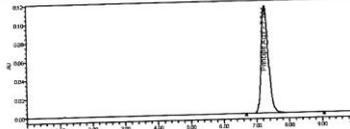


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.245	1481024	5.963715e+003	1.181937e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 6 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 130%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	12
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 4:45:47 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

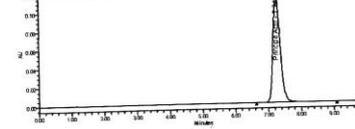


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.244	1746238	5.934396e+003	1.192075e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 7 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 130%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	12
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 4:56:45 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm

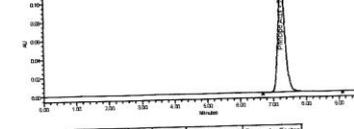


Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.245	1749199	5.939968e+003	1.191892e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 8 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name:	PC ch 130%
Sample Type:	Unknown
Injection #:	3
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	10.0 Minutes
Date Acquired:	5/5/2015 5:07:41 PM CET
Date Processed:	5/14/2015 1:54:10 PM CET
Acquired By:	System
Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Acq. Method Set:	Dosage MS
Processing Method:	Dosage PA MP
Channel Name:	WQ489 CNA
Proc. Chnl. Descr.:	WQ489 CNA 290nm



Peak Name	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principle Act	7.248	1757177	5.948789e+003	1.189299e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 9 of 9

Project Name: Principle Act  
 Date Printed: 5/14/2015  
 1:55:26 PM ABB/CA/MS/ST

**Component Summary For Retention Time**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC ch 100%	1	W2489 ChA	7	7.249
2	PC ch 100%	2	W2489 ChA	7	7.247
3	PC ch 100%	3	W2489 ChA	7	7.248
4	PC ch 110%	1	W2489 ChA	11	7.244
5	PC ch 110%	2	W2489 ChA	11	7.250
6	PC ch 110%	3	W2489 ChA	11	7.248
7	PC ch 130%	1	W2489 ChA	12	7.244
8	PC ch 130%	2	W2489 ChA	12	7.246
9	PC ch 130%	3	W2489 ChA	12	7.248
Mean					7.247
Std. Dev.					0.002
% RSD					0.0

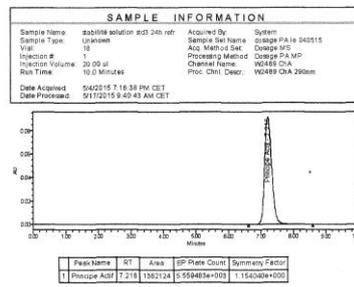
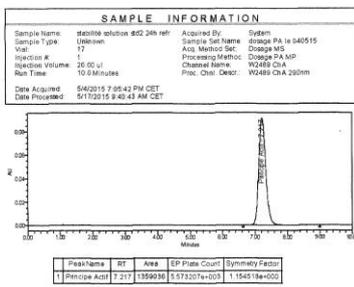
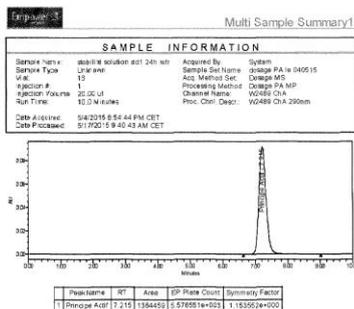
**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	PC ch 100%	1	W2489 ChA	7	1341601
2	PC ch 100%	2	W2489 ChA	7	1340450
3	PC ch 100%	3	W2489 ChA	7	1339913
4	PC ch 110%	1	W2489 ChA	11	1487206
5	PC ch 110%	2	W2489 ChA	11	1486193
6	PC ch 110%	3	W2489 ChA	11	1486094
7	PC ch 130%	1	W2489 ChA	12	1746238
8	PC ch 130%	2	W2489 ChA	12	1749139
9	PC ch 130%	3	W2489 ChA	12	1752717
Mean					1525506
Std. Dev.					179387
% RSD					11.8

**Chromatogramme de paramètre : Linéarité sur principe actif**

## **IV. Chromatogrammes du paramètre : Stabilité des solutions**

# Stabilité des solutions au réfrigérateur 24h



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 1 of 6

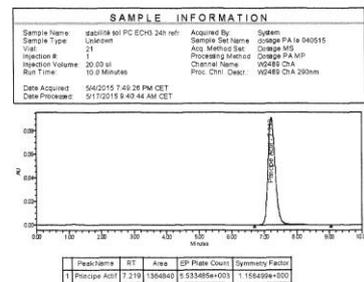
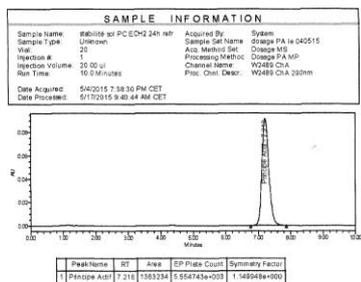
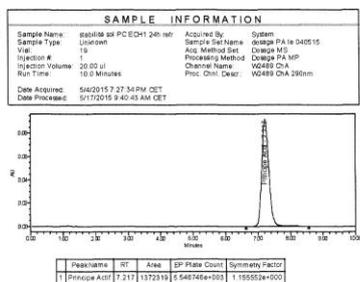
Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:22:04 AM Africa/Ajmer

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 2 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:22:04 AM Africa/Ajmer

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 3 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:22:04 AM Africa/Ajmer



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015

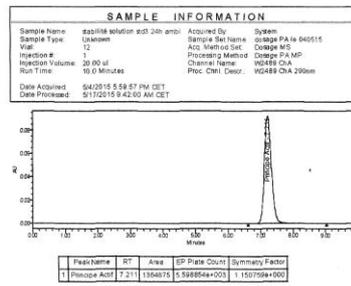
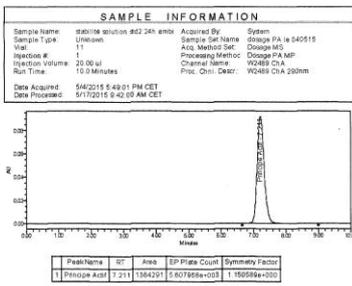
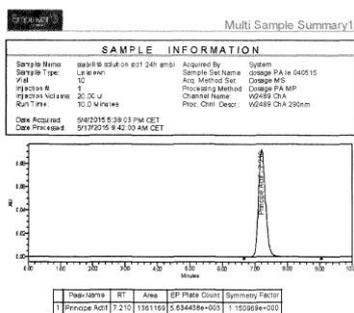
**Component Summary For Retention Time**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	stabilité solution std1 24h refr	1	W2489 ChA	16	7.215
2	stabilité solution std2 24h refr	1	W2489 ChA	17	7.217
3	stabilité solution std3 24h refr	1	W2489 ChA	18	7.216
4	stabilité sol PC ECH1 24h refr	1	W2489 ChA	19	7.217
5	stabilité sol PC ECH2 24h refr	1	W2489 ChA	20	7.218
6	stabilité sol PC ECH3 24h refr	1	W2489 ChA	21	7.219
Mean					7.217
Std. Dev.					0.001
% RSD					0.0

**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	stabilité solution std1 24h refr	1	W2489 ChA	16	1364459
2	stabilité solution std2 24h refr	1	W2489 ChA	17	1359036
3	stabilité solution std3 24h refr	1	W2489 ChA	18	1362124
4	stabilité sol PC ECH1 24h refr	1	W2489 ChA	19	1372319
5	stabilité sol PC ECH2 24h refr	1	W2489 ChA	20	1363234
6	stabilité sol PC ECH3 24h refr	1	W2489 ChA	21	1364840
Mean					1364335
Std. Dev.					4431
% RSD					0.3

# Stabilité des solutions a T° ambiante 24h



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary 1  
 Report Method ID: 2209  
 Page: 1 of 6

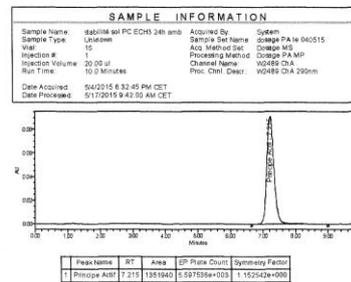
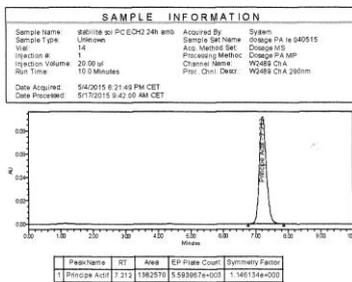
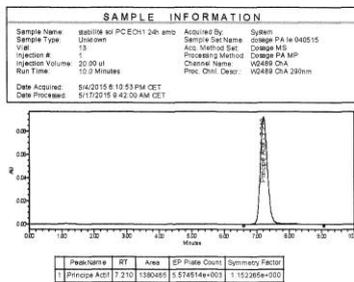
Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 01/17/2015  
 11:21:10 AM Africa/Waker

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary 1  
 Report Method ID: 2209  
 Page: 2 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 01/17/2015  
 11:21:10 AM Africa/Waker

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary 1  
 Report Method ID: 2209  
 Page: 3 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 01/17/2015  
 11:21:10 AM Africa/Waker



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary 1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 01/17/2015

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary 1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 01/17/2015

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary 1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 01/17/2015

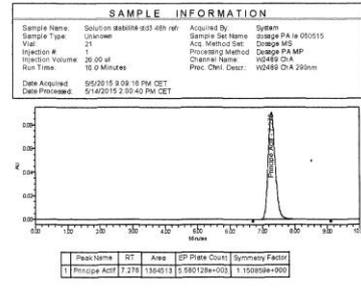
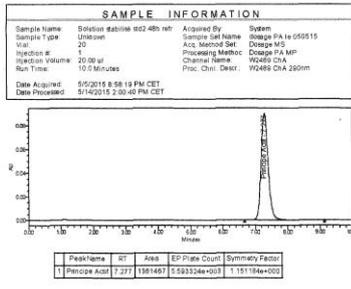
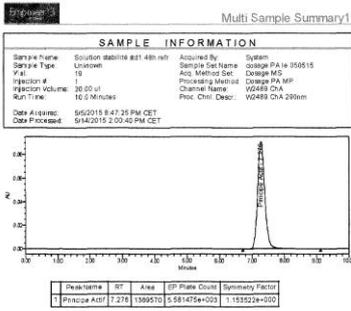
**Component Summary For Retention Time**  
 Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	stabilité solution std1 24h refr	1	W2489 ChA	16	7.215
2	stabilité solution std2 24h refr	1	W2489 ChA	17	7.217
3	stabilité solution std3 24h refr	1	W2489 ChA	18	7.216
4	stabilité sol PC ECH1 24h refr	1	W2489 ChA	19	7.217
5	stabilité sol PC ECH2 24h refr	1	W2489 ChA	20	7.218
6	stabilité sol PC ECH3 24h refr	1	W2489 ChA	21	7.219
Mean					7.217
Std. Dev.					0.001
% RSD					0.0

**Component Summary For Area**  
 Channel: W2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	stabilité solution std1 24h refr	1	W2489 ChA	16	1364459
2	stabilité solution std2 24h refr	1	W2489 ChA	17	1359036
3	stabilité solution std3 24h refr	1	W2489 ChA	18	1362124
4	stabilité sol PC ECH1 24h refr	1	W2489 ChA	19	1372319
5	stabilité sol PC ECH2 24h refr	1	W2489 ChA	20	1363234
6	stabilité sol PC ECH3 24h refr	1	W2489 ChA	21	1364840
Mean					1364335
Std. Dev.					4431
% RSD					0.3

# Stabilité des solutions au réfrigérateur 48h



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 2 of 6

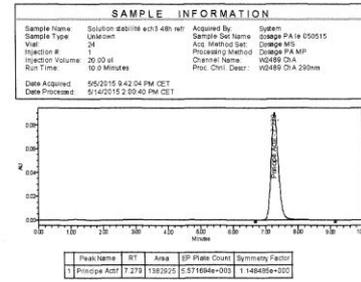
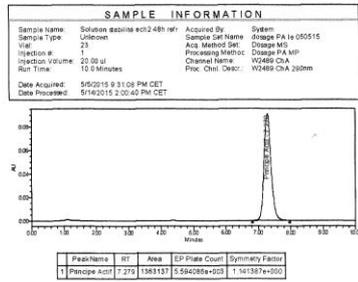
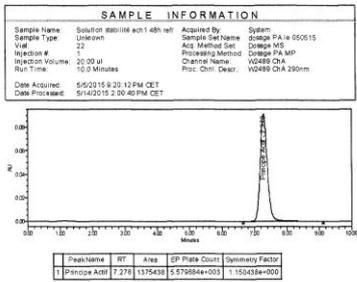
Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:24:23 AM Africa/Alex

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 2 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:24:23 AM Africa/Alex

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 3 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:24:23 AM Africa/Alex



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015

**Component Summary For Retention Time**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 48h refr	1	W2489 ChA	19	7.276
2	Solution stabilité std2 48h refr	1	W2489 ChA	20	7.277
3	Solution stabilité std3 48h refr	1	W2489 ChA	21	7.276
4	Solution stabilité ech1 48h refr	1	W2489 ChA	22	7.278
5	Solution stabilité ech2 48h refr	1	W2489 ChA	23	7.279
6	Solution stabilité ech3 48h refr	1	W2489 ChA	24	7.279
Mean					7.278
Std. Dev.					0.002
% RSD					0.0

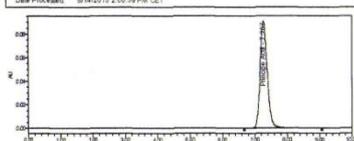
**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 48h refr	1	W2489 ChA	19	1369570
2	Solution stabilité std2 48h refr	1	W2489 ChA	20	1361467
3	Solution stabilité std3 48h refr	1	W2489 ChA	21	1364513
4	Solution stabilité ech1 48h refr	1	W2489 ChA	22	1375438
5	Solution stabilité ech2 48h refr	1	W2489 ChA	23	1363137
6	Solution stabilité ech3 48h refr	1	W2489 ChA	24	1362925
Mean					1366175
Std. Dev.					5330
% RSD					0.4

# Stabilité des solutions T° ambiante 48h

## Multi Sample Summary1

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Solution stabilis ec1 48h amb	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Orange PA la 050515
Vial:	13	Acq. Method Set:	Orange MS
Injection #:	1	Processing Method:	Orange PA MP
Injection Volume:	20.00 µl	Channel Name:	W0489 CHA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr:	W0489 CHA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 7:30:48 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 2:00:39 PM CET		

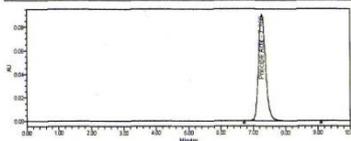


PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	7.271	1365400	5.58827e+001	1.15970e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 1 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:23:07 AM Africa/Algier

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Solution stabilis ec2 48h amb	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Orange PA la 050515
Vial:	14	Acq. Method Set:	Orange MS
Injection #:	1	Processing Method:	Orange PA MP
Injection Volume:	20.00 µl	Channel Name:	W0489 CHA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr:	W0489 CHA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 7:41:45 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 2:00:40 PM CET		

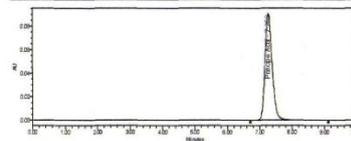


PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	7.269	1364111	5.50184e+001	1.15697e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 2 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:23:07 AM Africa/Algier

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Solution stabilis ec3 48h amb	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Orange PA la 050515
Vial:	15	Acq. Method Set:	Orange MS
Injection #:	1	Processing Method:	Orange PA MP
Injection Volume:	20.00 µl	Channel Name:	W0489 CHA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr:	W0489 CHA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 7:52:41 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 2:00:40 PM CET		

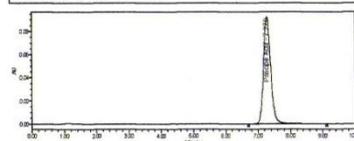


PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	7.268	1363378	5.55583e+001	1.15820e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 3 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:23:07 AM Africa/Algier

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Solution stabilis ec4 48h amb	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Orange PA la 050515
Vial:	16	Acq. Method Set:	Orange MS
Injection #:	1	Processing Method:	Orange PA MP
Injection Volume:	20.00 µl	Channel Name:	W0489 CHA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr:	W0489 CHA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 8:03:37 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 2:00:40 PM CET		

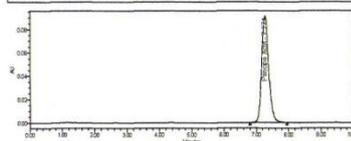


PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	7.270	1360095	5.55668e+001	1.15004e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 4 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:23:07 AM Africa/Algier

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Solution stabilis ec5 48h amb	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Orange PA la 050515
Vial:	17	Acq. Method Set:	Orange MS
Injection #:	1	Processing Method:	Orange PA MP
Injection Volume:	20.00 µl	Channel Name:	W0489 CHA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr:	W0489 CHA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 8:14:33 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 2:00:40 PM CET		

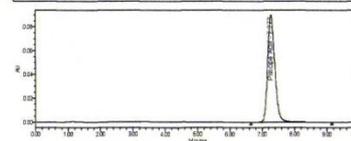


PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	7.271	1364839	5.50037e+001	1.15056e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 5 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:23:07 AM Africa/Algier

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Solution stabilis ec6 48h amb	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	Orange PA la 050515
Vial:	18	Acq. Method Set:	Orange MS
Injection #:	1	Processing Method:	Orange PA MP
Injection Volume:	20.00 µl	Channel Name:	W0489 CHA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr:	W0489 CHA 290nm
Date Acquired:	5/5/2015 8:25:28 PM CET		
Date Processed:	5/14/2015 2:00:40 PM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1	7.272	1353500	5.59128e+001	1.15480e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2009  
 Page: 6 of 6

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:23:07 AM Africa/Algier

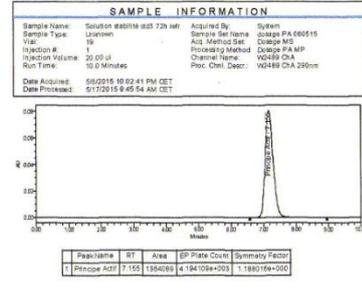
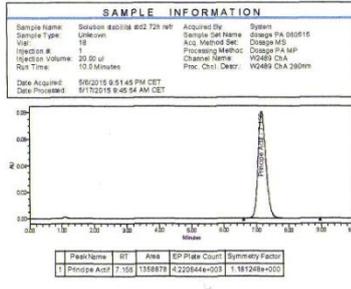
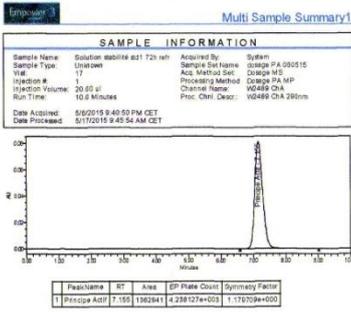
**Component Summary For Retention Time**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 48h ambi	1	W2489 ChA	13	7.267
2	Solution stabilité std2 48h ambi	1	W2489 ChA	14	7.268
3	Solution stabilité std3 48h ambi	1	W2489 ChA	15	7.269
4	Solution stabilité ech1 48h ambi	1	W2489 ChA	16	7.270
5	Solution stabilité ech2 48h ambi	1	W2489 ChA	17	7.271
6	Solution stabilité ech3 48h ambi	1	W2489 ChA	18	7.273
Mean					7.270
Std. Dev.					0.002
% RSD					0.0

**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 48h ambi	1	W2489 ChA	13	1365400
2	Solution stabilité std2 48h ambi	1	W2489 ChA	14	1364711
3	Solution stabilité std3 48h ambi	1	W2489 ChA	15	1367378
4	Solution stabilité ech1 48h ambi	1	W2489 ChA	16	1392085
5	Solution stabilité ech2 48h ambi	1	W2489 ChA	17	1364899
6	Solution stabilité ech3 48h ambi	1	W2489 ChA	18	1353596
Mean					1368011
Std. Dev.					12768
% RSD					0.9

# Stabilité des solutions au réfrigérateur 72h



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 02009  
 Page: 1 of 6

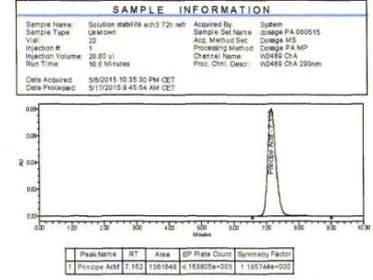
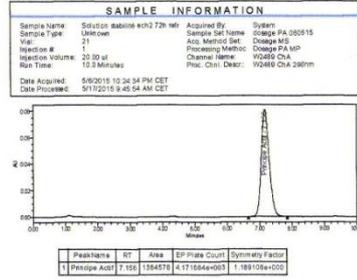
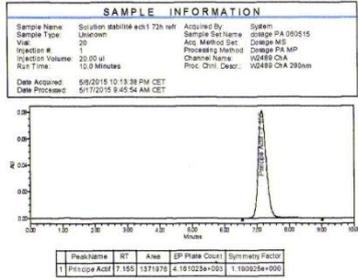
Project Name: Príncipe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:26:05 AM Africa/Morocco

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 02009  
 Page: 2 of 6

Project Name: Príncipe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:26:05 AM Africa/Morocco

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 02009  
 Page: 3 of 6

Project Name: Príncipe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:26:05 AM Africa/Morocco



Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 02009  
 Page: 4 of 6

Project Name: Príncipe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:26:05 AM Africa/Morocco

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 02009  
 Page: 5 of 6

Project Name: Príncipe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:26:05 AM Africa/Morocco

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 02009  
 Page: 6 of 6

Project Name: Príncipe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 11:26:05 AM Africa/Morocco

**Component Summary For Retention Time**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 72h refr	1	W2489 ChA	17	7.155
2	Solution stabilité std2 72h refr	1	W2489 ChA	18	7.156
3	Solution stabilité std3 72h refr	1	W2489 ChA	19	7.155
4	Solution stabilité ech1 72h refr	1	W2489 ChA	20	7.155
5	Solution stabilité ech2 72h refr	1	W2489 ChA	21	7.156
6	Solution stabilité ech3 72h refr	1	W2489 ChA	22	7.152
Mean					7.155
Std. Dev.					0.002
% RSD					0.0

**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

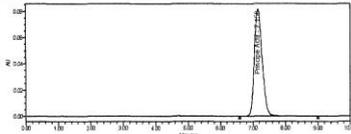
	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 72h refr	1	W2489 ChA	17	1362841
2	Solution stabilité std2 72h refr	1	W2489 ChA	18	1358878
3	Solution stabilité std3 72h refr	1	W2489 ChA	19	1364089
4	Solution stabilité ech1 72h refr	1	W2489 ChA	20	1371976
5	Solution stabilité ech2 72h refr	1	W2489 ChA	21	1364578
6	Solution stabilité ech3 72h refr	1	W2489 ChA	22	1361648
Mean					1364002
Std. Dev.					4406
% RSD					0.3

# Stabilité des solutions a T° ambiante 72h

Empress 3

Multi Sample Summary1

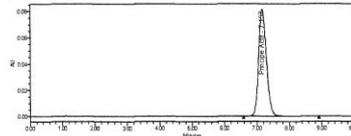
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name	Solution stabilisé ac1 72h amb
Sample Type	Unknown
Vial	11
Injection #	1
Injection Volume	20.00 µl
Run Time	10.0 Minutes
Date Acquired	5/17/2015 9:24:11 AM CET
Date Processed	5/17/2015 9:45:54 AM CET



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	
1	Principe Actif	7.155	1362233	4.274697e+003	1.155209e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (I2009)  
 Page 1 of 6  
 11:25:35 AM Africa/Nairobi

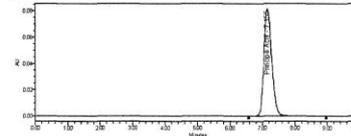
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name	Solution stabilisé ac2 72h amb
Sample Type	Unknown
Vial	12
Injection #	1
Injection Volume	20.00 µl
Run Time	10.0 Minutes
Date Acquired	5/16/2015 9:35:56 PM CET
Date Processed	5/17/2015 9:45:54 AM CET



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	
1	Principe Actif	7.157	1360892	4.26954e+003	1.158108e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (I2009)  
 Page 2 of 6  
 11:25:35 AM Africa/Nairobi

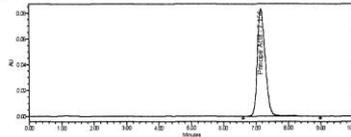
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name	Solution stabilisé ac3 72h amb
Sample Type	Unknown
Vial	13
Injection #	1
Injection Volume	20.00 µl
Run Time	10.0 Minutes
Date Acquired	5/16/2015 9:48:02 PM CET
Date Processed	5/17/2015 9:45:54 AM CET



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	
1	Principe Actif	7.155	1361993	4.261077e+003	1.162726e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (I2009)  
 Page 3 of 6  
 11:25:35 AM Africa/Nairobi

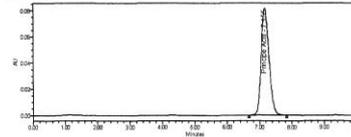
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name	Solution stabilisé ac4 72h amb
Sample Type	Unknown
Vial	14
Injection #	1
Injection Volume	20.00 µl
Run Time	10.0 Minutes
Date Acquired	5/16/2015 9:50:58 PM CET
Date Processed	5/17/2015 9:45:54 AM CET



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	
1	Principe Actif	7.156	1361993	4.26072e+003	1.167366e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (I2009)

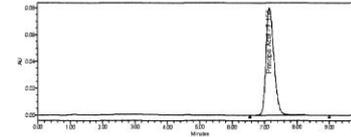
SAMPLE INFORMATION	
Sample Name	Solution stabilisé ac5 72h amb
Sample Type	Unknown
Vial	15
Injection #	1
Injection Volume	20.00 µl
Run Time	10.0 Minutes
Date Acquired	5/16/2015 9:07:58 PM CET
Date Processed	5/17/2015 9:45:54 AM CET



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	
1	Principe Actif	7.155	1363715	4.26855e+003	1.167138e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (I2009)

SAMPLE INFORMATION	
Sample Name	Solution stabilisé ac6 72h amb
Sample Type	Unknown
Vial	16
Injection #	1
Injection Volume	20.00 µl
Run Time	10.0 Minutes
Date Acquired	5/16/2015 9:18:51 PM CET
Date Processed	5/17/2015 9:45:54 AM CET



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor	
1	Principe Actif	7.155	1356220	4.208385e+003	1.170468e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method (I2009)

**Component Summary For Retention Time**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 72h ambi	1	W2489 ChA	11	7.156
2	Solution stabilité std2 72h ambi	1	W2489 ChA	12	7.157
3	Solution stabilité std3 72h ambi	1	W2489 ChA	13	7.155
4	Solution stabilité ech1 72h ambi	1	W2489 ChA	14	7.156
5	Solution stabilité ech2 72h ambi	1	W2489 ChA	15	7.155
6	Solution stabilité ech3 72h ambi	1	W2489 ChA	16	7.156
Mean					7.156
Std. Dev.					0.001
% RSD					0.0

**Component Summary For Area**  
**Channel: W2489 ChA**

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	Principe Actif
1	Solution stabilité std1 72h ambi	1	W2489 ChA	11	1360239
2	Solution stabilité std2 72h ambi	1	W2489 ChA	12	1360892
3	Solution stabilité std3 72h ambi	1	W2489 ChA	13	1361993
4	Solution stabilité ech1 72h ambi	1	W2489 ChA	14	1391950
5	Solution stabilité ech2 72h ambi	1	W2489 ChA	15	1363715
6	Solution stabilité ech3 72h ambi	1	W2489 ChA	16	1350426
Mean					1364869
Std. Dev.					14063
% RSD					1.0

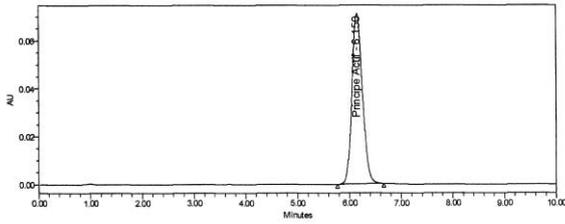
## **V. Chromatogramme du paramètre : Robustesse**

# Chromatogramme des paramètres : Robustesse

Empower 3

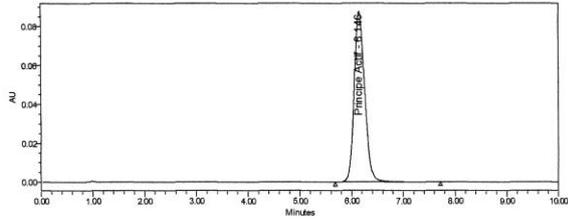
Multi Sample Summary1

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	placebo ch 90%	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	6	Acq. Method Set:	Dosage 1 2 MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 288nm
Date Acquired:	5/6/2015 1:05:07 AM CET		
Date Processed:	5/17/2015 10:46:39 AM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	6.150	984664	4.546019e+003	1.112143e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	placebo ch 110%	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	11	Acq. Method Set:	Dosage 1 2 MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 288nm
Date Acquired:	5/6/2015 1:16:03 AM CET		
Date Processed:	5/17/2015 10:46:40 AM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	6.146	1235235	4.492359e+003	1.131131e+000

Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method I(2009)  
Page: 1 of 2

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/17/2015  
10:52:45 AM Africa/Algeria

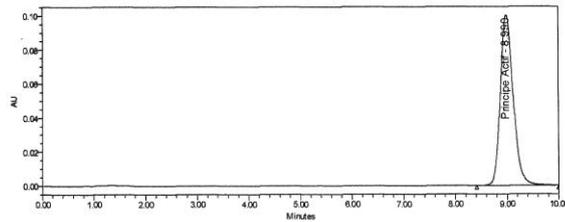
Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method I(2009)  
Page: 2 of 2

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/17/2015  
10:52:45 AM Africa/Algeria

Empower 3

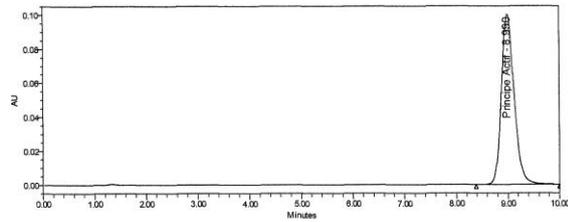
Multi Sample Summary1

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	STD 1	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	3	Acq. Method Set:	Dosage 0 8 MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChB
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChB 292nm
Date Acquired:	5/5/2015 10:45:33 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 10:02:36 AM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	8.990	1732961	6.464296e+003	1.168882e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	STD 1	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	3	Acq. Method Set:	Dosage 0 8 MS
Injection #:	2	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChB
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChB 292nm
Date Acquired:	5/5/2015 10:56:29 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 10:03:29 AM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	8.990	1734525	6.461634e+003	1.169383e+000

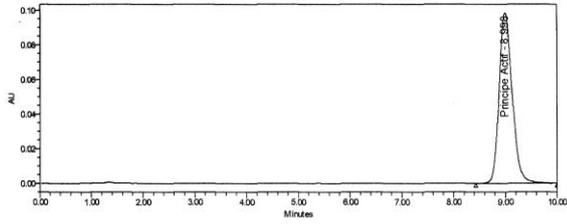
Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method I(2009)  
Page: 1 of 2

Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/17/2015  
2:49:10 PM Africa/Algeria

Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary1  
Report Method I(2009)  
Page: 2 of 2

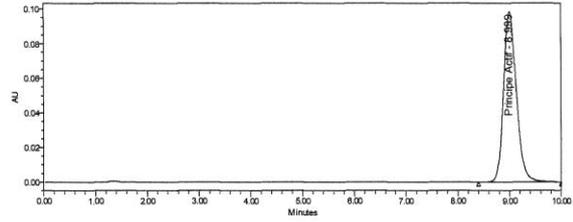
Project Name: Principe Actif  
Date Printed: 5/17/2015  
2:49:10 PM Africa/Algeria

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	STD 1	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	3	Acq. Method Set:	Dosage 0 8 MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 288nm
Date Acquired:	5/5/2015 10:45:33 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 10:03:29 AM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	8.998	1701723	6.480714e+003	1.167742e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	STD 1	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	dosage PA le 050515
Vial:	3	Acq. Method Set:	Dosage 0 8 MS
Injection #:	2	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 288nm
Date Acquired:	5/5/2015 10:56:29 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 10:03:29 AM CET		



PeakName	RT	Area	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	8.998	1703286	6.481362e+003	1.168621e+000

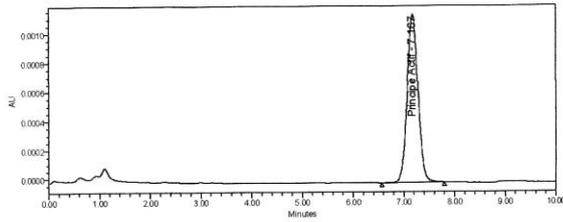
## **VI. Chromatogrammes des paramètres Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)**

# Chromatogrammes des paramètres LOD et LOQ à (0.5 / 1.6 / 2 / 2.4 µg/ml)



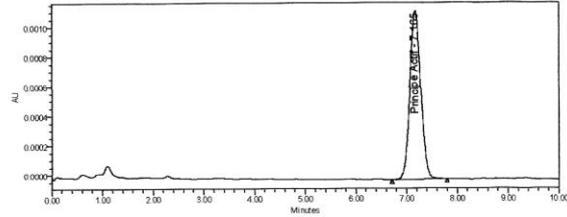
## Multi Sample Summary1

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 0.5µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	6	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 5:18:17 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:04 AM CET		



Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.167	17376	1181	5.374835e+003	1.050105e+000

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 0.5µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	6	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	2	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 5:29:13 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:04 AM CET		

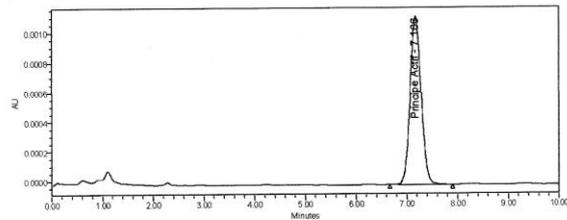


Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.165	17129	1144	5.324191e+003	1.051284e+000

Reported by User: System      Project Name: Principe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1      Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method I(2329)      2:54:52 PM Africa/Alaiens  
 Page: 1 of 3

Reported by User: System      Project Name: Principe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1      Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method I(2329)      2:54:52 PM Africa/Alaiens  
 Page: 2 of 3

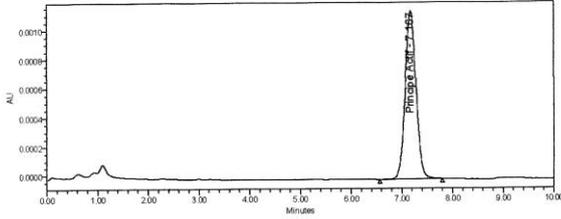
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 0.5µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	6	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	3	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 5:40:08 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:04 AM CET		



Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.166	17171	1137	5.245283e+003	1.060640e+000

Reported by User: System      Project Name: Principe Actif  
 Report Method: Multi Sample Summary1      Date Printed: 5/17/2015  
 Report Method I(2329)      2:54:52 PM Africa/Alaiens  
 Page: 3 of 3

SAMPLE INFORMATION		
Sample Name:	solution à 0.5µg/ml de PA	Acquired By: System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name: dosage PA 060515
Vial:	6	Acq. Method Set: Dosage M5
Injection #:	1	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name: W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 5:18:17 PM CET	
Date Processed:	5/17/2015 9:49:04 AM CET	

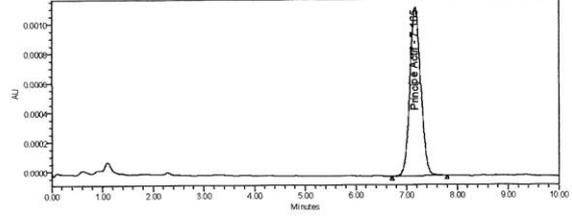


Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.167	17376	1181	5.374835e+003	1.050105e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method I(2329)  
 Page: 1 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:54:52 PM Africa/Aloiers

SAMPLE INFORMATION		
Sample Name:	solution à 0.5µg/ml de PA	Acquired By: System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name: dosage PA 060515
Vial:	6	Acq. Method Set: Dosage M5
Injection #:	2	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name: W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 5:29:13 PM CET	
Date Processed:	5/17/2015 9:49:04 AM CET	

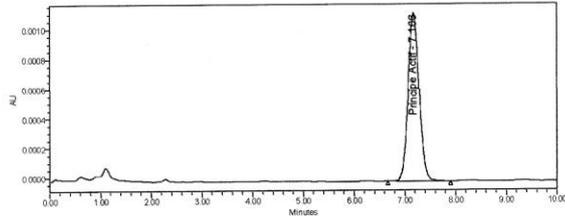


Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.165	17129	1144	5.324191e+003	1.051284e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method I(2329)  
 Page: 2 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:54:52 PM Africa/Aloiers

SAMPLE INFORMATION		
Sample Name:	solution à 0.5µg/ml de PA	Acquired By: System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name: dosage PA 060515
Vial:	6	Acq. Method Set: Dosage M5
Injection #:	3	Processing Method: Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name: W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 5:40:08 PM CET	
Date Processed:	5/17/2015 9:49:04 AM CET	



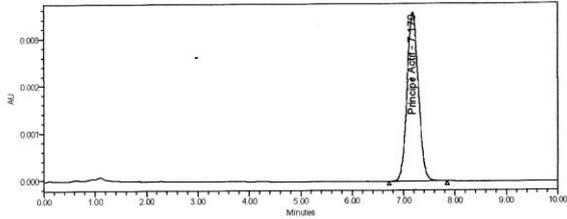
Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.166	17171	1137	5.245283e+003	1.060940e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method I(2329)  
 Page: 3 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:54:52 PM Africa/Aloiers

## SAMPLE INFORMATION

Sample Name: solution à 1.6µg/ml de PA Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA 060515  
 Vial: 8 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection #: 1 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 µl Channel Name: W2489 ChA  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm  
 Date Acquired: 5/6/2015 8:23:54 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:49:03 AM CET



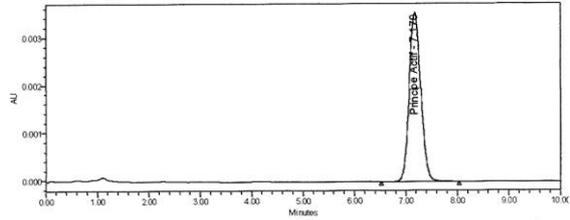
Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.170	55274	3580	4.981992e+003	1.062870e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 1 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:25 PM Africa/Algerien

## SAMPLE INFORMATION

Sample Name: solution à 1.6µg/ml de PA Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA 060515  
 Vial: 8 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection #: 2 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 µl Channel Name: W2489 ChA  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm  
 Date Acquired: 5/6/2015 8:34:48 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:49:03 AM CET



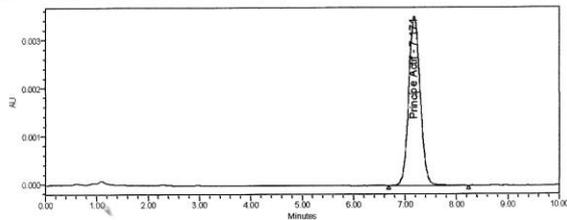
Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.170	55445	3558	4.899734e+003	1.065699e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 2 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:25 PM Africa/Algerien

## SAMPLE INFORMATION

Sample Name: solution à 1.6µg/ml de PA Acquired By: System  
 Sample Type: Unknown Sample Set Name: dosage PA 060515  
 Vial: 8 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Injection #: 3 Processing Method: Dosage PA MP  
 Injection Volume: 20.00 µl Channel Name: W2489 ChA  
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm  
 Date Acquired: 5/6/2015 6:45:43 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:49:03 AM CET



Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.171	55524	3530	4.838744e+003	1.070452e+000

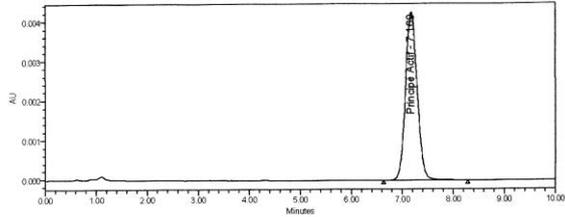
Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 3 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:25 PM Africa/Algerien



Multi Sample Summary1

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 2.0µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	9	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 6:56:39 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:03 AM CET		

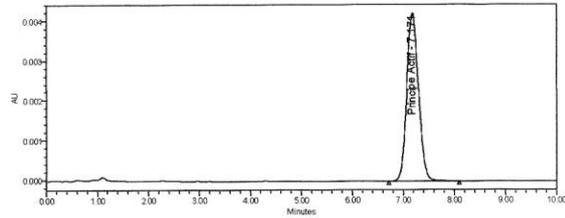


Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prindpe Adif	7.169	67844	4272	4.752630e+003	1.074796e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 1 of 3

Project Name: Prindpe Adif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:37 PM Africa/Algeria

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 2.0µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	9	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	2	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 7:07:34 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:03 AM CET		

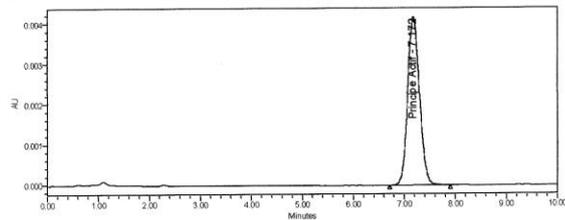


Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prindpe Adif	7.171	67473	4229	4.675856e+003	1.081990e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 2 of 3

Project Name: Prindpe Adif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:37 PM Africa/Algeria

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 2.0µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	9	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	3	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 7:18:29 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:03 AM CET		



Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Prindpe Adif	7.172	67401	4199	4.602766e+003	1.085346e+000

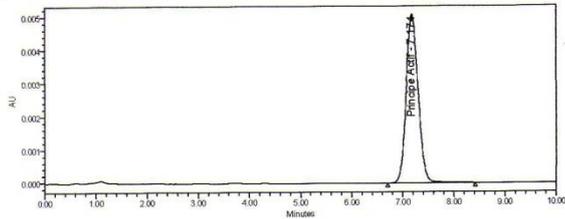
Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 3 of 3

Project Name: Prindpe Adif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:37 PM Africa/Algeria



Multi Sample Summary1

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 2.4µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	10	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	1	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 7:29:26 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:03 AM CET		

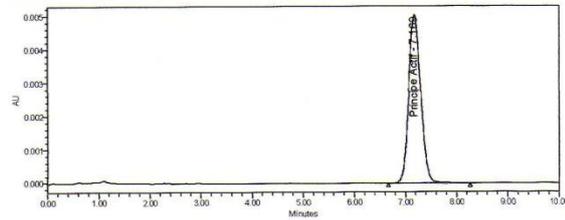


PeakName	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.174	82792	5109	4.551136e+003	1.093814e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 1 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:50 PM Africa/Algeria

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 2.4µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	10	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	2	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 7:40:21 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:03 AM CET		

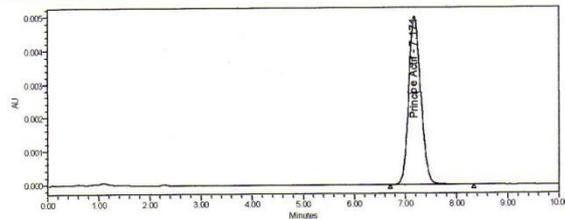


PeakName	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.169	82516	5071	4.505156e+003	1.099224e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 2 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:50 PM Africa/Algeria

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	solution à 2.4µg/ml de PA	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	dosage PA 060515
Vial:	10	Acq. Method Set:	Dosage MS
Injection #:	3	Processing Method:	Dosage PA MP
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	W2489 ChA
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 290nm
Date Acquired:	5/6/2015 7:51:17 PM CET		
Date Processed:	5/17/2015 9:49:03 AM CET		



PeakName	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.171	82427	5038	4.452495e+003	1.103617e+000

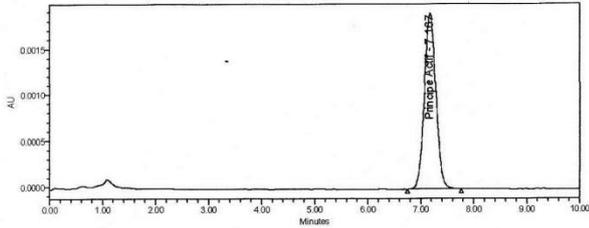
Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method ID: 2329  
 Page: 3 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:50 PM Africa/Algeria

## SAMPLE INFORMATION

Sample Name: solution à 0.8µg/ml de PA  
 Sample Type: Unknown  
 Vial: 7  
 Injection #: 1  
 Injection Volume: 20.00 µl  
 Run Time: 10.0 Minutes  
 Date Acquired: 5/6/2015 5:51:05 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:49:03 AM CET

Acquired By: System  
 Sample Set Name: dosage PA 060515  
 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Processing Method: Dosage PA MP  
 Channel Name: W2489 ChA  
 Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm



Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.167	28895	1915	5.224443e+003	1.055685e+000

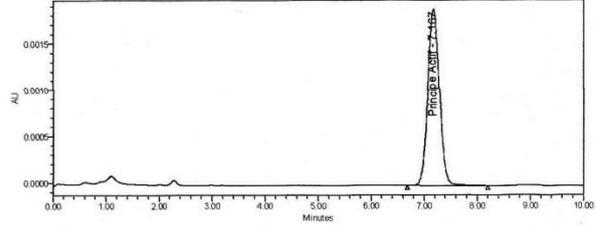
Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method I(2329)  
 Page: 1 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:13 PM Africa/Alaiers

## SAMPLE INFORMATION

Sample Name: solution à 0.8µg/ml de PA  
 Sample Type: Unknown  
 Vial: 7  
 Injection #: 2  
 Injection Volume: 20.00 µl  
 Run Time: 10.0 Minutes  
 Date Acquired: 5/6/2015 6:02:01 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:49:03 AM CET

Acquired By: System  
 Sample Set Name: dosage PA 060515  
 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Processing Method: Dosage PA MP  
 Channel Name: W2489 ChA  
 Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm



Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.167	29041	1900	5.150698e+003	1.061421e+000

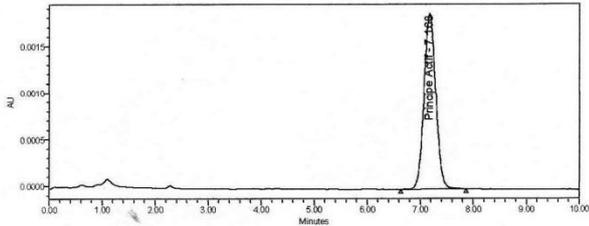
Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method I(2329)  
 Page: 2 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:13 PM Africa/Alaiers

## SAMPLE INFORMATION

Sample Name: solution à 0.8µg/ml de PA  
 Sample Type: Unknown  
 Vial: 7  
 Injection #: 3  
 Injection Volume: 20.00 µl  
 Run Time: 10.0 Minutes  
 Date Acquired: 5/6/2015 6:12:56 PM CET  
 Date Processed: 5/17/2015 9:49:03 AM CET

Acquired By: System  
 Sample Set Name: dosage PA 060515  
 Acq. Method Set: Dosage MS  
 Processing Method: Dosage PA MP  
 Channel Name: W2489 ChA  
 Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 290nm



Peak Name	RT	Area	Height (µV)	EP Plate Count	Symmetry Factor
1 Principe Actif	7.168	29036	1885	5.038317e+003	1.057085e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary1  
 Report Method I(2329)  
 Page: 3 of 3

Project Name: Principe Actif  
 Date Printed: 5/17/2015  
 2:55:13 PM Africa/Alaiers

## **Abstract**

The drug quality control requires the identification and determination of related substances of medicines by the HPLC technique is a physicochemical test which the analysis time is relatively slow

Validation is an important step to ensure the reliability of the results provided by a given analytical method .The objective of this work is to develop an effective method for the determination of an analgesic suppository form and validate technical HPLC UV-Vis detection.

The development of the method was based on the properties of the active ingredient to choose the mobile phase to obtain optimal separation between the peak of the active ingredient and the major impurity.

The optimization has also focused on the detection of the active substance choosing the wave length.

The flow of the mobile phase was also optimized.

The validation of the method used in this study to verify the specificity of the method, linearity, precision, accuracy, robustness and stability of the solutions used.

## **Keywords :**

Validation, Optimization, Focus, Medicine, Control, HPLC

## **Résumé**

Le contrôle qualité des médicaments nécessite l'identification et dosage des substances apparentées des médicaments par la technique HPLC est un test physicochimique dont le temps d'analyse est relativement lent.

La validation est une étape primordiale pour garantir la fiabilité des résultats fournis par une méthode analytique donnée.

L'objectif de ce travail est de mettre au point une méthode efficace d'un médicament en forme pelliculé et de la valider par technique HPLC à détection UV-visible et la mise au point de la méthode a consisté en se basant sur les propriétés des principes actif à choisir la phase mobile permettant d'obtenir une séparation optimale entre le pic du principe actif et de l'impureté majoritaire et l'optimisation a également porté sur la détection de la substance active choisissant la longueur d'onde correspondant à l'absorbance maximale, le débit de la phase mobile a également , été optimisation .

La validation de la méthode utilisé dans cette étude a permis aussi de vérifier la spécificité de la méthode, la linéarité, la fidélité, l'exactitude, la robustesse ainsi que la stabilité des solutions utilisés.

## **Mots clés :**

Validation, Optimisation, mise au point, Médicament, contrôle, HPLC.