



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



Année: 2021

Thèse N°: 35

VALIDATION ANALYTIQUE D'une methoDe De Dosage de l'atorvastatine

THESE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2021

PAR

Monsieur Saad BELABDA
Né le 18 Septembre 1995 à Rabat

Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie

Mots Clés : Validation analytique; Atorvastatine; Dosage; HPLC

Membres du Jury :

Monsieur Samir AHID

Professeur de Pharmacologie

Monsieur Mustapha BOUATIA

Professeur de Chimie Analytique et Bromatologie

Monsieur Rachid NEJJARI

Professeur de Pharmacognosie

Monsieur Miloud EL KARBANE

Professeur de Chimie Analytique et Bromatologie

Président

Rapporteur

Juge

Juge

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا
ما علمتنا إنك أنت العليم
الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT**

1. DOYENS HONORAIRES :

2. 1962 – 1969: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013: Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ADMINISTRATION :

<i>Doyen</i>	Professeur Mohamed ADNAOUI
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et Etudiantines</i>	Professeur Brahim LEKEHAL
<i>Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération</i>	Professeur Toufiq DAKKA
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie</i>	Professeur Younes RAHALI
<i>Secrétaire Général</i>	Mr. Mohamed KARRA

* Enseignants Militaires

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

3. PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz Médecine Interne – Clinique Royale
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed Médecine Interne – Doyen de la FMPR
Pr. OUAZZANI Taibi Mohamed Réda Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha Gynécologie -Obstétrique
Pr. TAZI Saoud Anas Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim Anesthésie Réanimation- Doyen de FMPO
Pr. BAYAHIA Rabéa Néphrologie
Pr. BELKOUCHI Abdelkader Chirurgie Générale
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif Chirurgie Générale
Pr. BENSOUDA Yahia Pharmacie galénique
Pr. BERRAHO Amina Ophtalmologie
Pr. BEZAD Rachid Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Maternité des

Orangers

Pr. CHERRAH Yahia Pharmacologie
Pr. CHOKAIRI Omar Histologie Embryologie
Pr. KHATTAB Mohamed Pédiatrie
Pr. SOULAYMANI Rachida Pharmacologie- Dir. du Centre National PV Rabat
Pr. TAOUFIK Jamal Chimie thérapeutique__

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed Chirurgie Générale Doyen de FMPT
Pr. BENSOUDA Adil Anesthésie Réanimation
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza Gastro-Entérologie
Pr. CHRAIBI Chafiq Gynécologie Obstétrique
Pr. EL OUAHABI Abdessamad Neurochirurgie
Pr. FELLAT Rokaya Cardiologie
Pr. JIDDANE Mohamed Anatomie
Pr. TAGHY Ahmed Chirurgie Générale
Pr. ZOUHDI Mimoun Microbiologie

* Enseignants Militaires

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

FMPA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques *Doyen de la*

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale – *Directeur du CHIS*
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie – Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie *Inspecteur du SSM*
Pédiatrie
Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie *Directeur HMI Mohammed V*

* Enseignants Militaires

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Neurologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie *Directeur Hôp. Ar-razi Salé*
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Neurologie *Doyen de la FMP Abulcassis*
Abdesslam Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI AI Montacer
Pr. ECHARRAB EI Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie *Directeur Hôp. My Youssef*
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - *Directeur Hôp. Cheikh Zaid*
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria

Anesthésie-Réanimation
Neurologie

* Enseignants Militaires

Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN EI Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim

Est.

Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *

Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie - **Directeur Hôp. Univ. Cheikh Khalifa**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale **Directeur Hôpital Ibn Sina**
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique **V-D chargé Aff Acad.**

Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie **Dir.-Adj. HMI Mohammed V**
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie

* *Enseignants Militaires*

Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre *
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*

Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Rhumatologie
Ophtalmologie
Rhumatologie ***Directeur Hôp. Al Ayachi Salé***
Pédiatrie
Cardiologie
Biophysique
Cardiologie ***(mise en disponibilité)***
Pédiatrie
Radiologie

* *Enseignants Militaires*

Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire. *Directeur Hôpital Ibn Sina*

Marr.

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
Pr. AMHAJJI Larbi *
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed *
Pr. BALOUCH Lhousaine *
Pr. BENZIANE Hamid *

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique

* Enseignants Militaires

Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHERKAOUI Naoual *
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
Pr. EL BEKKALI Youssef *
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid *
Pr. ICHOU Mohamed *
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain *
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed *
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRANI Saad *
Pr. OUZZIF Ez zohra *
Pr. RABHI Monsef *
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine *
Pr. SIFAT Hassan *
Pr. TABERKANET Mustafa *
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour *
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali *
Pr. AGADR Aomar *
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
Pr. AKHADDAR Ali *
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen *
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae *
Pr. BOUI Mohammed *

* *Enseignants Militaires*

Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie-orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie [Directeur Hôp.des Spécialités](#)
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie

Pr. BOUNAIM Ahmed *
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
Pr. CHTATA Hassan Toufik *
Pr. DOGHMI Kamal *
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid *
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. LAMSAOURI Jamal *
Pr. MARMADÉ Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Chirurgie Générale
Traumatologie-orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-Phtisiologie

Anesthésie réanimation

Médecine Interne

Directeur ERSSM

Physiologie

Microbiologie

Médecine Aéronautique

Biochimie- Chimie

Radiologie

Chirurgie Pédiatrique

Pédiatrie

Radiologie

Chirurgie Plastique et Réparatrice

Urologie

Gastro-Entérologie

Anatomie Pathologique

Anesthésie Réanimation

Chirurgie Générale

Hématologie

Anatomie Pathologique

* *Enseignants Militaires*

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed	Chirurgie pédiatrique
Pr. ABOUELALAA Khalil *	Anesthésie Réanimation
Pr. BENCHEBBA Driss *	Traumatologie-orthopédie
Pr. DRISSI Mohamed *	Anesthésie Réanimation
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna	Chirurgie Générale
Pr. EL OUAZZANI Hanane *	Pneumophtisiologie
Pr. ER-RAJI Mounir	Chirurgie Pédiatrique
Pr. JAHID Ahmed	Anatomie Pathologique
Pr. RAISSOUNI Maha *	Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir	Pharmacologie
Pr. AIT EL CADI Mina	Toxicologie
Pr. AMRANI HANCHI Laila	Gastro-Entérologie
Pr. AMOR Mourad	Anesthésie Réanimation
Pr. AWAB Almahdi	Anesthésie Réanimation
Pr. BELAYACHI Jihane	Réanimation Médicale
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain	Anesthésie Réanimation
Pr. BENCHEKROUN Laila	Biochimie-Chimie
Pr. BENKIRANE Souad	Hématologie
Pr. BENNANA Ahmed*	Informatique Pharmaceutique
Pr. BENSGHIR Mustapha *	Anesthésie Réanimation
Pr. BENYAHIA Mohammed *	Néphrologie
Pr. BOUATIA Mustapha	Chimie Analytique et Bromatologie
Pr. BOUABID Ahmed Salim*	Traumatologie orthopédie
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba	Anatomie
Pr. CHAIB Ali *	Cardiologie
Pr. DENDANE Tarek	Réanimation Médicale
Pr. DINI Nouzha *	Pédiatrie
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali	Anesthésie Réanimation
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa	Radiologie
Pr. ELFATEMI Nizare	Neuro-chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JAOUDI Rachid *	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologique
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane *	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie

* *Enseignants Militaires*

Pr. FIKRI Meryem
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed *
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed *
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim *
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua *
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan *
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali *

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM *

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
Pr. BENCHAKROUN Mohammed *
Pr. BOUCHIKH Mohammed
Pr. EL KABBAJ Driss *
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira *
Pr. HARDIZI Houyam
Pr. HASSANI Amale *
Pr. HERRAK Laila
Pr. JANANE Abdellah *
Pr. JEAIDI Anass *

Radiologie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Pharmacologie
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique *Vice-Doyen à la Pharmacie*
Génétique
Neurologie
Ophtalmologie
Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique

* *Enseignants Militaires*

Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. LEMNOUER Abdelhay*
Pr. MAKRAM Sanaa *
Pr. OULAHYANE Rachid*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

Génycologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Médecine Interne
Généologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham *
Pr. BENZAOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. DOBLALI Taoufik
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA
Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

AOÛT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Dermatologie
Rhumatologie

PROFESSEURS AGREGES :

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Nouredine*
Pr. NITASSI Sophia

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABBI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*

Microbiologie
Cardiologie

* Enseignants Militaires

Pr. BOUAYTI EI Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Immunologie

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq *
Pr. ACHBOUK Abdelhafid *
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid *
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah *
Pr. BASSIR RIDA ALLAH
Pr. BOUATTAR TARIK
Pr. BOUFETTAL MONSEF
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed *
Pr. BOUZELMAT Hicham *
Pr. BOUKHRIS Jalal *
Pr. CHAFRY Bouchaib *
Pr. CHAHDI Hafsa *
Pr. CHERIF EL ASRI Abad *
Pr. DAMIRI Amal *
Pr. DOGHMI Nawfal *
Pr. ELALAOUI Sidi-Yassir
Pr. EL ANNAZ Hicham *
Pr. EL HASSANI Moulay EL Mehdi *
Pr. EL HJOUJI Aabderrahman *
Pr. EL KAOUI Hakim *
Pr. EL WALI Abderrahman *
Pr. EN-NAFAA Issam *
Pr. HAMAMA Jalal *
Pr. HEMMAOUI Bouchaib *
Pr. HJIRA Naoufal *
Pr. JIRA Mohamed *
Pr. JNIENE Asmaa
Pr. LARAQUI Hicham *
Pr. MAHFOUD Tarik *

Néphrologie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
Radiothérapie
Gynécologie-obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Traumatologie-orthopédie
Traumatologie-orthopédie
Anatomie Pathologique
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Anesthésie-réanimation
Pharmacie Galénique
Virologie
Gynécologie-obstétrique
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Anesthésie-réanimation
Radiologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
O.R.L
Dermatologie
Médecine Interne
Physiologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale

* Enseignants Militaires

Pr. MEZIANE Mohammed *
Pr. MOUTAKI ALLAH Younes *
Pr. MOUZARI Yassine *
Pr. NAOUI Hafida *
Pr. OBTEL Majdouline
Pr. OURRAI Abdelhakim *
Pr. SAOUAB Rachida *
Pr. SBITTI Yassir *
Pr. ZADDOUG Omar *
Pr. ZIDOUH Saad *

Anesthésie-réanimation
Chirurgie Cardio-vasculaire
Ophtalmologie
Parasitologie-Mycologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pédiatrie
Radiologie
Oncologie Médicale
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-réanimation

* *Enseignants Militaires*

2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

4. PROFESSEURS/Prs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. YAGOUBI Maamar	Environnement,Eau et Hygiène
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

Mise à jour le 11/06/2020

KHALED Abdellah

Chef du Service des Ressources Humaines

FMPR

** Enseignants Militaires*



Dédicaces



Je dédie cette thèse à...

Allah Le Tout Puissant

*Louange à Dieu, qui m'a permis de réaliser ce travail, et de voir ce jour tant
attendu*

A mes très chers parents,

*Mes remerciements les plus sincères à mes parents BERAHAL Essadia et
BELABDA M'barek*

pour avoir toujours été à mes côtés.

*Aucune dédicace, aucune phrase ne saurait être assez éloquente pour exprimer le
grand amour et le respect que je vous porte.*

*C'est grâce à vos sacrifices que je suis là aujourd'hui, sans vos prières, vos
conseils, et votre dévouement, je n'aurais pu surmonter le stress de ces années
d'études.*

Puisse Dieu, vous préserver santé, bonheur, et longue vie.

Merci, pour tout, Je vous dois tout.

Je t'aime PAPA

Je t'aime Maman

A toute la famille,

Veillez retrouver en ce modeste travail l'expression de ma gratitude et mon amour.

Que Dieu vous garde

A mes très chers amis

En souvenirs de notre forte et sincère amitié et des moments de joie inoubliables que nous avons passés ensemble.

En témoignage de profond attachement qui nous unit,

Que Dieu vous protège et vous procurez prospérité, longue vie, bonheur et santé.

***À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à
l'élaboration de ce travail :***

*Dr ATTJIOUI Houda, Dr BELABDA Tarik, Dr BOUAZZAOUI Karim,
Dr GUEIT Anouar, M.HAMRAOUI Hicham, M.KHAYA Mostafa*

Mes plus vifs remerciements pour vos encouragements et votre soutien,

Vos conseils m'ont toujours aidé à parcourir ce chemin.

En témoignage de toute ma reconnaissance, et ma gratitude

Je vous dédie ce modeste travail.

Remerciements



À Notre maître et président de jury

Monsieur AHID Samir

Professeur de Pharmacologie

En présidant ce jury, Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites

Vos qualités humaines et professionnelles sont d'une grande admiration.

Nous voudrions vous transmettre, à travers ce modeste travail, l'expression de notre vive gratitude et notre profond respect.

À Notre maître et Rapporteur de thèse

Monsieur BOUATIA Mustapha

Professeur de Chimie Analytique et Bromatologie

Merci pour avoir accepté d'encadrer ce modeste travail.

Votre modestie, votre disponibilité complète, votre altruisme, vos encouragements représentent le meilleur modèle que nous serons heureux de suivre.

Veillez accepter ici, Cher Professeur l'expression de notre grande reconnaissance et de notre gratitude.

À Notre Maître et Juge de Thèse

Monsieur NEJJARI Rachid

Professeur de Pharmacognosie

Je vous remercie chaleureusement de l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger parmi les jurys de thèse.

Nous tenons à vous rendre hommage pour vos compétences professionnelles et la qualité de votre enseignement.

Que cette thèse soit le témoignage de notre sincère respect.

***À Notre Maître et Juge de Thèse
Monsieur EL KARBANE Miloud***

Professeur de Chimie Analytique et Bromatologie

*C'est pour nous un grand honneur et un grand privilège de vous avoir
dans ce jury de thèse.*

*Votre clairvoyance, votre compétence, et votre rigueur sont autant de
valeurs qui nous inspirent toujours.*

*Je vous prie de trouver, Cher Professeur, dans ce modeste travail
l'assurance de ma profonde reconnaissance et l'expression de mes
remerciements.*



Liste des abréviations

ALAT	: Alanine aminotransférase
AMM	: Autorisation de mise sur le marché
ASAT	: Aspartate aminotransférase
AT	: Atorvastatine
BPL	: Bonnes Pratiques du laboratoire
CG-SM	: Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse
CL	: Chromatographie liquide
Cmax	: Concentration maximale
Cp	: Comprimé
CT	: Cholestérol total
CTD	: Common Technical Document
CV	: Coefficient de variance
C-VLDL	: Cholestérol des lipoprotéines de très faible densité
DMF	: Drug master file
DMP	: Direction du Médicament et de la Pharmacie
FDA	: Food and Drug Administration
FI	: Fidélité intermédiaire
Grade AR	: Grade analytical reagent
HDL-C	: Cholestérol des lipoprotéines de haute densité
HMG-CoA	: 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A
HPLC	: Chromatographie en phase liquide à haute performance
HPTLC	: Chromatographie sur couche mince haute performance

IC	: Intervalle de confiance
ICH	: International Conference on Harmonisation
IDL	: Lipoprotéines de densité intermédiaire
ISO	: International Organization for Standardization
LDL	: Low density lipoprotein
Mg	: Milligramme
Milli-Q	: Millipore corporation
mL	: Millilitre
PA	: Principe actif.
Ppm	: Partie par million
RP-HPLC	: Chromatographie liquide de haute performance en phase inverse
SA	: Substance active
SCR	: Standard chimique de référence
SFSTP	: Société française des sciences et techniques pharmaceutiques
SM	: Spectrométrie de masse
STD	: Standard
TG	: Triglycéride
THF	: Tétrahydrofurane
Tmax	: Temps maximal
TR	: Temps de rétention.
USP	: Pharmacopée américaine
UV-visible	: Ultraviolet-visible.



Liste des illustrations

Liste des figures

Figure 1 : Structure du cholestérol	6
Figure 2 : Structure de la compactine	7
Figure 3 : Compactine et autres statines commercialisées (analogues de compactine)	10
Figure 4 : Structure développée de la molécule de l'Atorvastatine calcique trihydratée.....	15
Figure 5 : Biosynthèse du cholestérol et mécanisme d'action des statines	17
Figure 6 : Cycle de vie d'une méthode d'analyse	25
Figure 7 : Les critères de la validation analytique d'une méthode d'analyse	26
Figure 8 : Résultats du test de spécificité	41
Figure 9 : Courbe de régression linéaire.....	45
Figure 10 : Graphique des résidus.....	46

Liste des tableaux

Tableau I : Spécialités pharmaceutiques (Cps) des statines disponibles au Maroc	11
Tableau II : Solubilité en fonction de différentes gammes de pH.....	14
Tableau III : Conditions chromatographiques	34
Tableau IV : Les paramètres de validation de la méthode analytique de dosage.....	35
Tableau V : Protocole de validation et critères d'acceptation par paramètre.....	35
Tableau VI : Critères de conformité du système	38
Tableau VII : Résultats de la linéarité du standard d'atorvastatine.....	43
Tableau VIII : Résultats de l'analyse des résidus	45
Tableau IX : Récapitulatif des résultats	46
Tableau X : Résultats du test de l'exactitude du dosage de l'atorvastatine.....	48
Tableau XI : Résultats du test de répétabilité du dosage de l'atorvastatine.....	50
Tableau XII : Résultats du test de Fidélité 2 du dosage de l'atorvastatine	51
Tableau XIII : Résultats du test de Fidélité intermédiaire	52
Tableau XIV : Paramètres modifiés pour le test de robustesse	54
Tableau XV : Résultats du test de robustesse de la méthode de dosage de l'atorvastatine.....	54
Tableau XVI : Conformité de système de chaque analyse.....	55
Tableau XVII : Méthodes de dosage de l'Atorvastatine trouvées dans la littérature.....	57
Tableau XVIII : Comparaison des réactifs et solutions des différentes méthodes d'analyse trouvées dans la littérature avec notre étude.....	58
Tableau XIX : Étude comparative des conditions chromatographiques de dosage de l'Atorvastatine par HPLC	59

Tableau XX : Comparaison des paramètres de spécificité et linéarité de notre étude avec ceux de la littérature.....62

Tableau XXI : Comparaison des paramètres d'exactitude, de précision et robustesse de notre étude avec ceux de la littérature63



Sommaire

Introduction	1
Partie bibliographique	5
I. Les statines :	6
1. Synthèse du cholestérol	6
2. Historique des statines :	7
II. Propriétés de l'ATORVASTATINE :	14
1. Propriétés physico-chimiques	14
1.1. Aspect	14
1.2. Solubilité	14
1.3. Structure isomérisation et stabilité	15
2. Propriétés pharmacologiques	16
2.1. Propriétés pharmacodynamiques :	16
2.2. Propriétés pharmacocinétiques:	18
2.2.1. Absorption :	18
2.2.2. Distribution :	18
2.2.3. Biotransformation :	18
2.2.4. Élimination :	18
2.3. Indications :	19
2.4. Interactions médicamenteuses :	19
2.5. Interactions avec les aliments :	21
2.6. Effets indésirables :	21
2.7. Contre-indications :	22
III. Validation d'une méthode d'analyse	23
1. Définition :	23
2. Objectifs :	23
3. Domaines d'application de la validation analytique :	23
4. Contexte réglementaire :	23
5. Cycle de vie d'une méthode analytique :	24
6. Les critères de validation d'une procédure analytique :	26

6.1. Spécificité	27
6.2. Linéarité.....	27
6.3. Exactitude (Justesse)	27
6.4. Fidélité (Précision) : ICH-SFSTP	27
6.4.1. Répétabilité	28
6.4.2. Précision intermédiaire	28
6.4.3. Reproductibilité.....	28
6.4.4. Robustesse : ICH-SFSTP.....	28
6.5. Limite de détection :.....	29
6.6. Limite de quantification :.....	29
IV. Chromatographie en phase liquide à haute performance.....	30
1. Principe	30
2. Appareillage.....	30
Partie pratique	32
I. Introduction et objectifs	33
II. Matériels et méthodes.....	34
1. Description de la méthode d'analyse.....	34
1.1. Equipement	34
1.2. Réactifs et solutions.....	34
1.3. Conditions Chromatographiques.....	34
1.4. Les paramètres de validation	35
1.5. Protocole de validation par caractéristiques	35
2. Solution standard et préparation d'échantillons :.....	37
3. Système de suitabilité :.....	38
4. Formule de calcul :.....	39
III. Résultats.....	40
1. Spécificité	40
2. Linéarité.....	42
3. Exactitude	47
4. Fidélité.....	49

4.1. Répétabilité	49
4.2. Fidélité intermédiaire	51
5. Robustesse	53
6. Système de suitability	55
IV. Discussion	56
V. Conclusion.....	65
Conclusion	66
Résumés	68
Références	72



Introduction

Depuis 1985, la validation analytique a toujours été un sujet qui intéresse les industries pharmaceutiques, aux Etats-Unis d'abord, puis en Europe à partir de 1990. En terme de qualité, les revendications de l'industrie pharmaceutique sont de plus en plus élevées, et la validation des méthodes analytiques est devenue un concept de base dans les laboratoires de contrôle qualité de l'industrie pharmaceutique.

La validation analytique accompagne la méthode d'analyse, dès la phase de développement analytique jusqu'à la revalidation si nécessaire, au cours de sa mise en œuvre, et pendant son évolution. L'efficacité et les limites d'une méthode d'analyse seront redéfinies et réévaluées d'une façon continue.

Dans le contexte réglementaire, elle appartient au module 3 du dossier CTD d'autorisation de mise sur le marché d'un produit pharmaceutique [1]. En effet, en 16 juillet 2003, une validation complète est devenue obligatoire avec la méthode analytique décrite dans le dossier d'AMM au Maroc, selon la circulaire du ministère de la Santé N°49DMP/00 [2].

De nombreux guides réglementaires internationaux ont défini la validation comme l'ICH, FDA, ISO, et les BPL [4]. À l'échelle nationale, les deux guides les plus adoptés sont ceux de la Société Française des Sciences Techniques et Pharmaceutiques (SFSTP), et celui du Conseil International d'Harmonisation (ICH) [3].

La validation analytique doit faire partie du processus de validation des moyens et outils d'analyse, en considérant la qualification de l'appareillage, les circonstances d'utilisation de la méthode, le contrôle de ses performances tout au long de son utilisation que l'on doit engendrer une validation [1]. La validation donc s'applique aux différentes méthodes de contrôle, y compris le développement galénique, le contrôle de la matière première, le contrôle en cours de fabrication, les essais de stabilité, le contrôle des produits intermédiaires et finis [3].

La validation analytique repose sur une analyse statistique basée sur des critères aboutissant à des méthodes analytiques qui permettent de fournir des résultats crédibles, pour cela, plusieurs documents ont été publiés sous forme de textes réglementaires, de guides, ou de normes pour essayer de caractériser des procédures de validation et de calcul de l'incertitude [1].

Un taux élevé de cholestérol, associé ou non à un taux élevé de triglycérides, donne l'hyperlipidémie qui est largement répandue dans la population mondiale [5]. Elle est classée deuxième dans la liste des dix maladies chroniques les plus courantes dans la planète. Et présente un important facteur de risque cardiovasculaire [6]. Le cholestérol a fait l'objet de plusieurs recherches par les médecins et les scientifiques depuis qu'il a été isolé pour la première fois en 1784 dans les calculs biliaires. Treize prix Nobel ont été attribués à des scientifiques qui ont fait des études sur le cholestérol durant leur carrière.

Découverts à la fin des années 70, les inhibiteurs de la 3-hydroxy-methylglytaryl coenzyme A réductase, ou statines, se sont révélées être de meilleurs hypocholestérolémiants [5].

Le but de notre étude est de valider une méthode de dosage d'un produit fini contenant l'Atorvastatine Calcique 80 mg. Au Maroc, une dizaine de génériques de statines sont commercialisés aujourd'hui notamment à base de l'Atorvastatine [7].

Ce travail met au point une nouvelle méthode analytique qui permet le dosage d'Atorvastatine dans une forme pharmaceutique solide, par chromatographie en phase liquide à haute performance, pour l'adapter à l'utilisation en routine. Il a été réalisé dans le laboratoire de contrôle qualité au sein de l'industrie pharmaceutique Pharmaceutical Institute désigné sous l'abréviation PHI, Situé à route OUED AKREUCH, région d'OUM AZZA-AIN EL AOUDA à proximité de RABAT-MAROC.

PHI a été créée en 1988, et devenue une industrie performante grâce à ses infrastructures et équipements qui respectent les normes de l'industrie pharmaceutique internationale. 60 % de leur activité principale concerne le développement d'une gamme générique fabriquée localement [8].

Notre travail est réparti en deux grandes parties :

- Une partie bibliographique qui comprend des généralités sur le cholestérol, les statines et la validation analytique.
- Une partie pratique qui traite le cas de la validation d'une méthode de dosage de l'atorvastatine dans les comprimés d'atorvastatine calcique 80 mg.



Partie bibliographique

2. Historique des statines :

Découverte de la compactine :

En 1972, le biochimiste japonais Akira Endo, chercheur au sein de la compagnie pharmaceutique Sankyo à Tokyo a découvert la première statine. Il s'agit de la compactine (figure 2).

Lors d'un séjour de deux ans à New York, il a remarqué une augmentation d'hypercholestérolémie et de cardiopathie coronaire au sein de la population américaine. Puis il a décidé d'orienter ses recherches sur les molécules à activité hypolipémiante.

Akira Endo a souligné que la culture fongique peut produire de la pénicilline et également des substances qui inhibent la synthèse du cholestérol. Cette hypothèse est basée sur l'idée que certains microorganismes devaient produire de tels composés comme moyen de défense contre d'autres microbes nécessitants, pour leur développement des stérols [12].

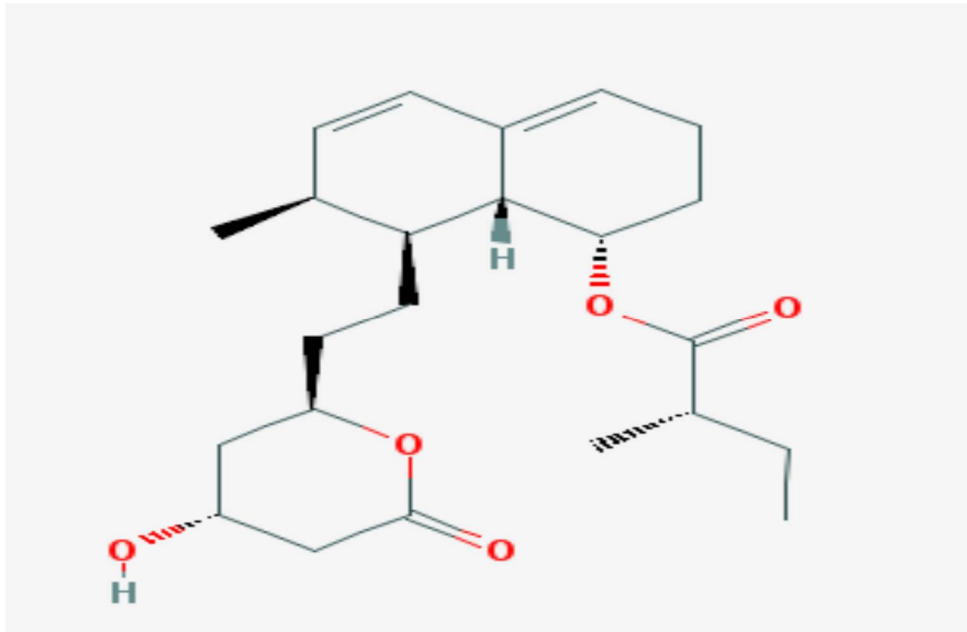


Figure 2 : Structure de la compactine [13].

En 1972, dans la culture de milliers de champignons, il isola la Citrinine, qui représente une première substance fortement inhibitrice de la HMG-CoA réductase, mais la recherche est arrêtée en raison de sa néphrotoxicité. Quelques mois plus tard, les mêmes activités ont été mises en œuvre dans un milieu de culture de la moisissure *Penicillium citrinum*. Trois métabolites actifs ont été isolés par extraction par solvant, chromatographie sur gel de silice, et cristallisation. ML-336B ou compactine ou mévastatine. Les recherches vont concerner le plus actif des trois.

L'analyse moléculaire de la compactine révèle ses analogies structurales avec le HMG-CoA, substrat de la HMG-CoA réductase, nous permet de dire que la compactine est la première statine, d'origine microbienne et spécifique de l'HMG-CoA réductase.

En 1974, les études chez l'animal commencèrent, avec une efficacité démontrée chez le singe, le chien et le poulet [5].

Dès 1978, les premières études cliniques ont commencé, une efficacité de traitement remarquable avec une diminution du taux de cholestérol plasmatique d'environ 30 %, sans effets secondaires notables chez six patients atteints d'hypercholestérolémie familiale et trois patients atteints d'hyperlipidémie mixte. Alors, vers la fin de l'année 1978, la compagnie Sankyo adopte un développement clinique de la compactine, conduit à un bon profil de tolérance avec une efficacité remarquable dans le traitement de l'hypercholestérolémie sévère, mais au milieu de l'année 1980, la plupart de ces essais cliniques ont été suspendus, à cause des effets toxiques chez certains chiens à des doses plus élevées dans une étude de toxicité à long terme, avec une posologie jusqu'à 200 fois supérieure à celle utilisée chez l'homme [14].

Découverte de la lovastatine :

À la fin de l'année 1970, de nombreuses sociétés pharmaceutiques ont commencé à rechercher une autre statine. Le laboratoire Merck en 1976 a signé un accord de confidentialité avec la compagnie Sankyo pour obtenir des échantillons de compactine et des données expérimentales confidentielles sous la direction d'Alfred Albert. En 1979, ils ont isolé une statine très similaire à la compactine dans sa structure chimique nommée la mévinoline isolée du fungus *Aspergillus terreus*. Pendant ce temps, une autre statine a été isolée à partir des cultures de *Monascus ruber*, la monacoline K. Il s'avère que ces deux composés sont la même molécule qui a été renommée lovastatine.

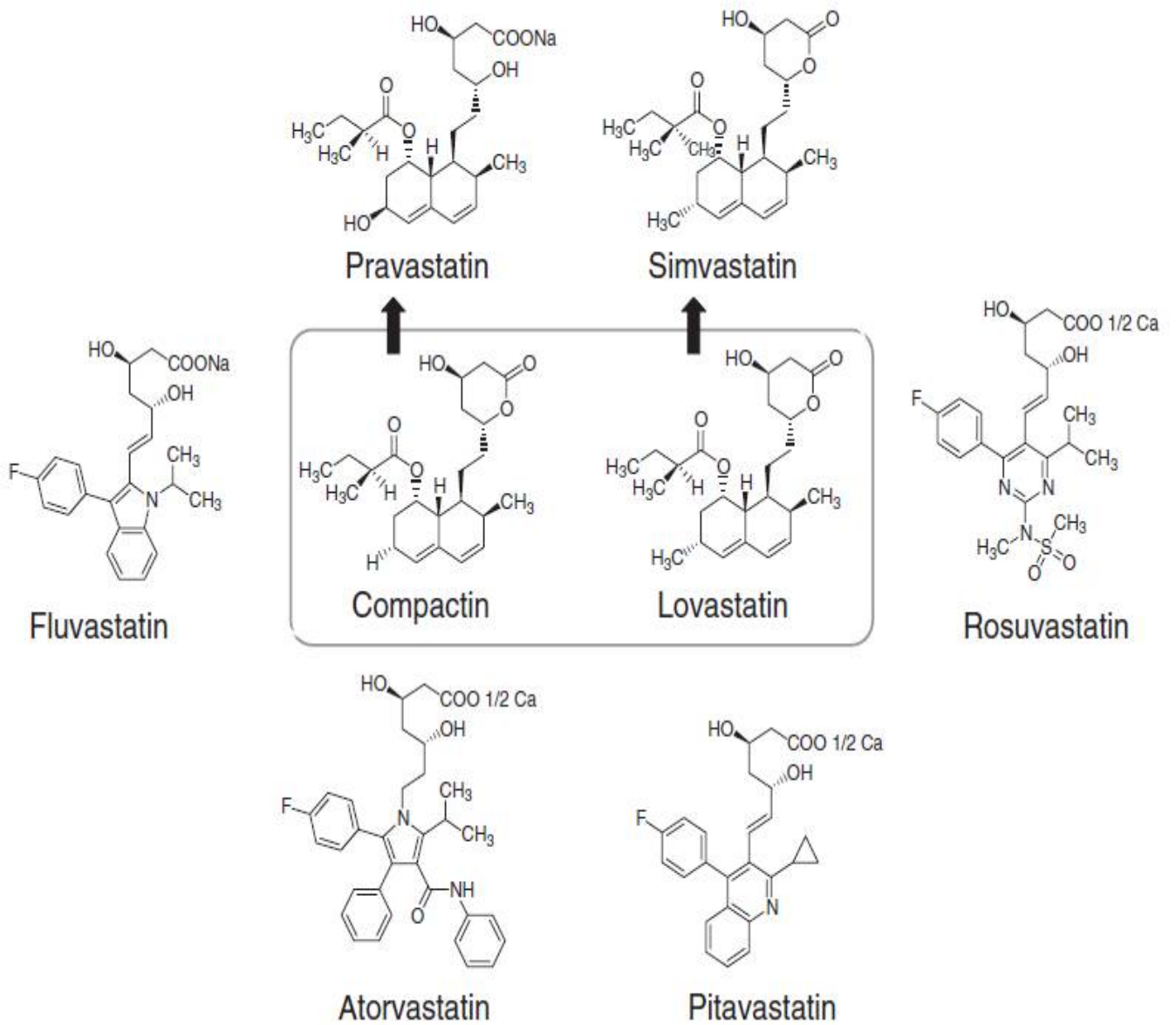


Figure 3 : Compactine et autres statines commercialisées (analogues de compactine) [5].

En avril 1980, Merck a commencé les études cliniques préliminaires de la lovastatine, proche structurellement de la compactine. 5 mois plus tard, et à cause des rumeurs concernant le potentiel carcinogène de la molécule chez les chiens, le projet a été stoppé. Mais ce risque n'a jamais été confirmé chez l'homme. L'efficacité démontrée de la compactine dans le traitement d'hypercholestérolémie sévère, à très haut risque cardiovasculaire, va conduire Merck à faire des essais cliniques à grande échelle et études de toxicité à long terme pour la lovalostatine, les résultats montrent toujours la grande efficacité de la molécule alors qu'elle va devenir la première statine commercialisée dans le monde en 1987, après l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché donnée par la FDA (Food and Drug Administration) [5].

Le tableau I ci-dessous présente les spécialités contenant les statines commercialisées au Maroc :

Tableau I : Spécialités pharmaceutiques (Cps) des statines disponibles au Maroc [7]

DCI	Noms commerciaux	Dosage	Prix public de vente (PPV) en dhs (boite de 28-30)	
Atorvastatine	COSTAL	10 mg	57.80	
		20mg	99.00	
		40mg	155.90	
	GENSTAT	10 mg	55.20	
		20mg	119.00	
		40mg	148.90	
	LD-NOR	10 mg	57.80	
		20mg	99.00	
		40mg	155.90	
	LIPITORVA		80 mg	74.80 (boite de 14)
	LIPTORVA	10 mg		55.20
		20 mg		101.80

		40 mg	133.60
		80 mg	219.00 (boite de 56)
	STANORM	10 mg	57.80
		20 mg	106.70
		40 mg	155.90
		80 mg	206.00
	TAHOR	10 mg	79.00
		20 mg	103.40
		40 mg	159.90
		80 mg	208.00
	TORVA	10 mg	57.80
		20 mg	106.70
Rosuvastatine	CRESTOR	5 mg	196.20
		10 mg	185.70
		20 mg	261.00
	DECRESTIN	5 mg	114.50
		10 mg	157.10
		20 mg	255.00
	NOLIP	10 mg	157.10
		20 mg	254.00
	ROSUCAL	5 mg	106.50
		10 mg	147.40
		20 mg	237.00
	ROSUSTAR	10mg	157.70
		20 mg	244.00
	ROSUVAS®	10 mg	157.80
	SUN	20 mg	255.00
	ROZAT	10 mg	147.40
		20 mg	244.00
Fluvastatine	LESCOL	20 mg	225.30

		40 mg	289.30
Pravastatine	LESCOL LP	80 mg	208.00
	COLENOR	20 mg	99.00
		40 mg	159.00
Simvastatine	PERLO	20 mg	157.70
	ELISOR	20 mg	414.90
	PRAVATOR	20 mg	99.10
	CHOLESTIN	10 mg	85.00
		20 mg	91.00
		40 mg	159.60
	CIVASTINE	10 mg	70.00
		20 mg	130.00
		40 mg	217.00
		LIPISTAT	10 mg
		20 mg	91.00
		40 mg	159.60
	NOCOL	20 mg	97.60
		40 mg	171.00
	ZOCOR	20 mg	116.70
		40 mg	135.60

II. Propriétés de l'ATORVASTATINE :

1. Propriétés physico-chimiques

Actuellement, l'Atorvastatine est décrite dans deux monographies en vigueur qui sont la pharmacopée américaine USP 41 et la pharmacopée européenne 10^{édition} [15-16]. Dans notre étude, on rapporte les spécifications et les protocoles analytiques recommandés par ces monographies et le DMF du fabricant..

1.1. Aspect

Poudre cristalline de couleur blanche à blanc cassé, exempte de matières étrangères visibles.

1.2. Solubilité

L'Atorvastatine est facilement soluble dans le méthanol et insoluble dans les solutions aqueuses de pH 4 et moins.

Les données de solubilité à différentes gammes de pH à température ambiante sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau II : Solubilité en fonction de différentes gammes de pH

Série N°	pH diluant	Concentration en mg/mL
1	1,0	0,0001
2	4,0	0,0004
3	5,5	0,0534
4	6,5	0,1141
5	7,5	0,1514
6	10,0	0,1755

1.3. Structure isomérisation et stabilité

➤ Structure isomérisation :

La structure développée de cette molécule est présentée par la figure 4. La fraction chimique de l'Atorvastatine calcique a deux carbones asymétriques. Le procédé de fabrication de l'Atorvastatine calcique 80 mg utilise l'isomère RR.

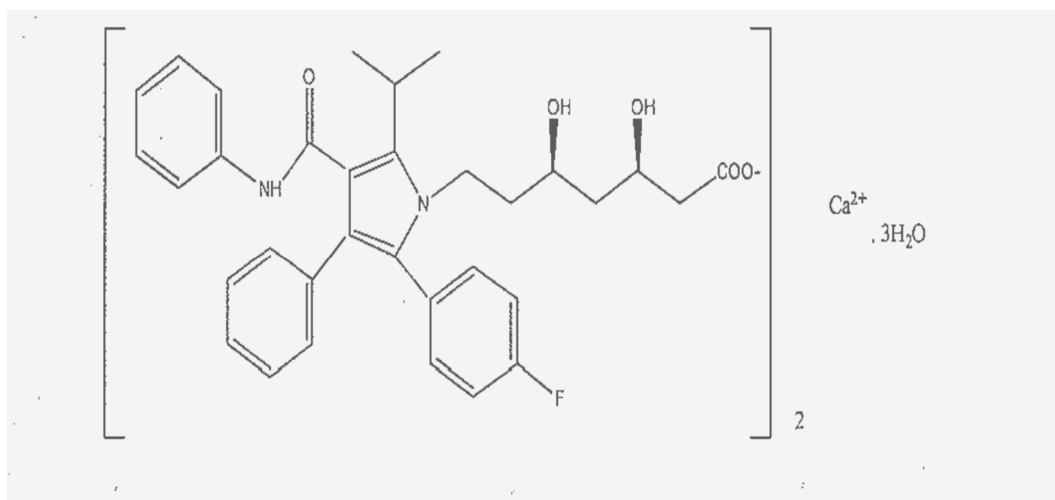


Figure 4 : Structure développée de la molécule de l'Atorvastatine calcique trihydratée [15].

Sa formule chimique est C₆₆H₆₈CaF₂N₄O₁₀Ca.3H₂O avec un poids moléculaire de 1209,4 g/mol. L'Atorvastatine calcique est connue par son nom chimique qui est :

[R-(R*,R*)]-2-(4-Fluorophenyl)-β,δ-dihydroxy-5-(1-méthylethyl)-3-phényl-4-[(phénylamino)carbonyl]-111-pyrrole-1-heptanoic acid-Calcium salt (2:1)

➤ Stabilité :

L'Atorvastatine doit être conservée à une température ambiante contrôlée (entre 15 °C et 30 °C) et protégée de l'humidité, de la chaleur et de la lumière, donc stockée dans un contenant fermé hermétiquement.

2. Propriétés pharmacologiques

L'Atorvastatine représente un inhibiteur compétitif de l'HMG-CoA (3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A) réductase, qui catalyse la transformation de l'HMG-CoA en Mévalonate (étape cinétiquement limitante dans la synthèse intracellulaire du cholestérol). Alors elle va diminuer la synthèse du cholestérol par le foie, en augmentant également le nombre de récepteurs LDL à la surface des cellules hépatiques.

L'Atorvastatine abaisse le cholestérol total (CT), le taux de cholestérol LDL, elle réduit également le taux de C-VLDL (cholestérol lié aux lipoprotéines de très basse densité), de TG (triglycérides), d'Apolipoprotéine B, et de lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), tout en augmentant le taux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) [17].

2.1. Propriétés pharmacodynamiques :

L'Atorvastatine comme les autres molécules de sa classe pharmacothérapeutique représente un inhibiteur sélectif et compétitif de l'HMG-CoA réductase, enzyme clé qui gère le contrôle du taux de biotransformation de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A en Mévalonate, un précurseur de la biosynthèse du cholestérol. Ce qui va impliquer une réduction du taux de cholestérol plasmatique, l'Atorvastatine augmente également le nombre des récepteurs des lipoprotéines de basse densité LDL, l'Atorvastatine peut aussi réduire le taux du cholestérol plasmatique en diminuant la production hépatique du VLDL et du cholestérol LDL [18].

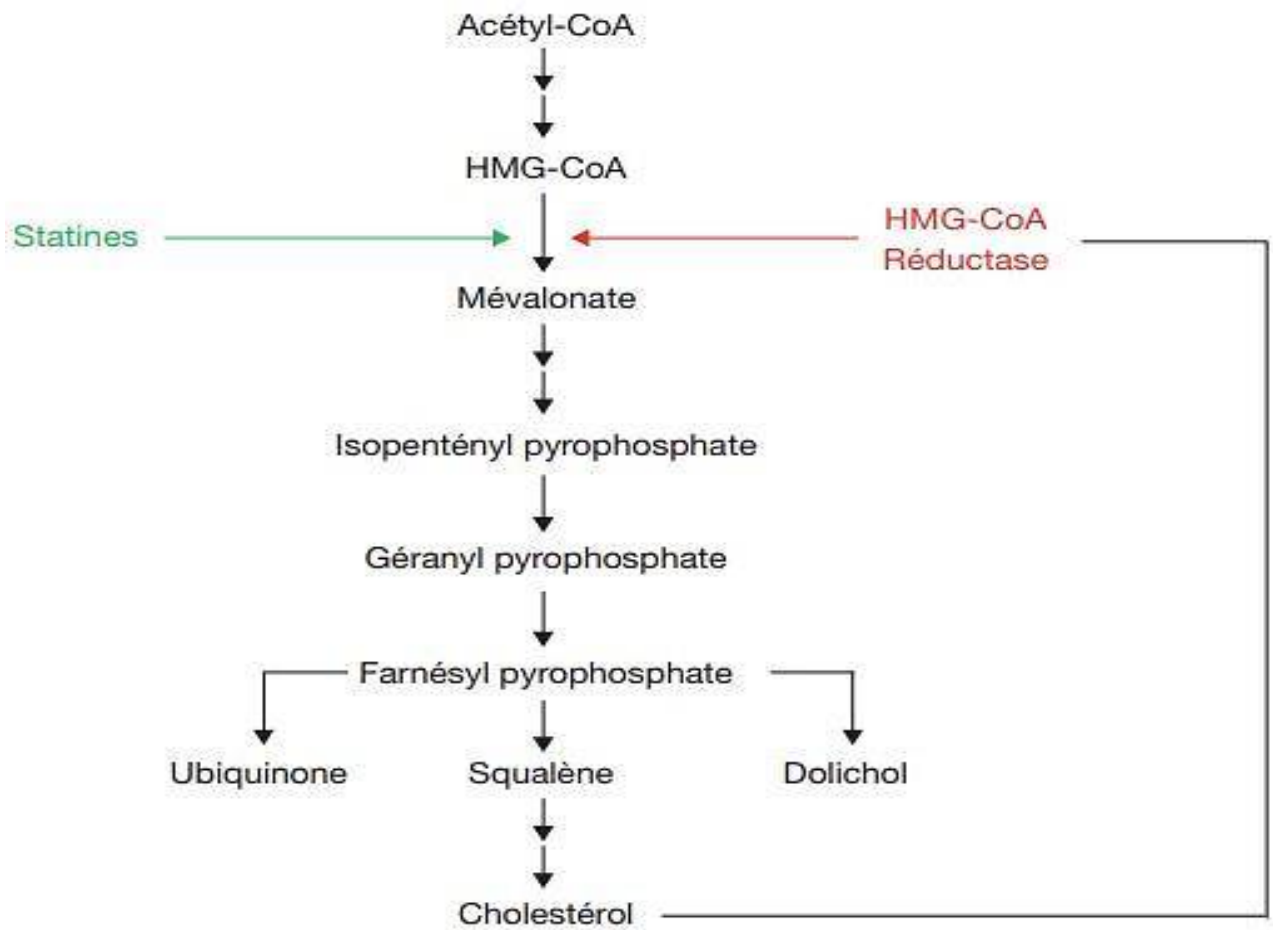


Figure 5 : Biosynthèse du cholestérol et mécanisme d'action des statines [19].

2.2. Propriétés pharmacocinétiques:

2.2.1. Absorption :

L'Atorvastatine est facilement absorbée après administration par voie orale, plusieurs doses quotidiennes de 2,5 à 80 mg donnent une concentration maximum plasmatique à l'état d'équilibre de 1,95 - 252 mg/ml après 1 à 2 h. L'aire sous la courbe des concentrations augmente proportionnellement avec la dose d'Atorvastatine, donc l'absorption est dose-dépendante. La faible biodisponibilité systémique est causée par l'effet de premier passage hépatique et/ou clairance pré-systémique dans la muqueuse gastro-intestinale [20].

L' Atorvastatine a une biodisponibilité absolue de 12 % [18].

2.2.2. Distribution :

L' Atorvastatine a un volume de répartition moyen de 381 litres, avec une forte liaison aux protéines plasmatiques qui est $\geq 98\%$ [20].

2.2.3. Biotransformation :

L'Atorvastatine est fortement métabolisée en dérivés parahydroxylés, orthohydroxylés, et en autres produits de bêta-oxydation.

70 % de l'activité circulante inhibitrice de l'HMG-CoA réductase est due aux métabolites actifs de l' Atorvastatine [18].

2.2.4. Elimination :

L'Atorvastatine et ses métabolites sont principalement éliminés dans la bile. Chez l'homme la demi-vie d'excrétion moyenne de l'Atorvastatine est d'environ 14 h, et à cause de la contribution des métabolites actifs, la demi-vie de l'activité d'inhibition de l'HMG-CoA réductase est de 20 à 30 heures.

Après administration orale, une dose inférieure à 2 % d'Atorvastatine est excrétée dans l'urine [18].

2.3. Indications :

L'Atorvastatine calcique est utilisée sous forme d'un complément alimentaire lors d'un régime afin de réduire la surélévation des taux cholestérol total (CT), de LDL-cholestérol (LDL-C), d'apolipoprotéine B et de triglycérides. Et de même pour développer le taux de C-HDL chez les patients atteints de dyslipidémie mixte et d'hypercholestérolémie primaire.

L'Atorvastatine est aussi indiquée pour traiter les patients présentant des taux sériques élevés de triglycérides, et pour réduire le taux du cholestérol total et LDL-C dans le cas d'une hypercholestérolémie familiale homozygote.

Elle est donnée également pour les patients atteints de dysbétalipoprotéïnémie primaire, qui ne répondent pas bien au régime [18].

2.4. Interactions médicamenteuses :

❖ **Contraceptifs oraux :**

L'Atorvastatine peut interagir avec les contraceptifs oraux contenant de la Noréthindrone et de l'Ethinylestradiol, la prise concomitante de l'Atorvastatine avec ces molécules induit une augmentation de leurs concentrations plasmatiques [18].

❖ **Erythromycine :**

L'Erythromycine est un inhibiteur du cytochrome P450 3A4, l'administration de 500 mg d'Erythromycine quatre fois quotidiennement avec l'Atorvastatine entraîne une amélioration de 33 % de l'exposition totale à l'Atorvastatine [18].

❖ **Antiacide :**

L'association d'un antiacide et d'Atorvastatine peut engendrer un taux de diminution des concentrations plasmatiques d'Atorvastatine d'environ 34 %. La réduction du taux des LDL-C n'est cependant pas changée [18].

❖ **Colestipol :**

Une co-administration d'Atorvastatine et du Colestipol entraîne une diminution remarquable d'environ 25 % des concentrations plasmatiques de l'Atorvastatine et de ses métabolites actifs [18].

❖ **Acide fusidique :**

Des rhabdomyolyses ont été observées lors d'une association de l'Atorvastatine et l'Acide Fusidique [21].

❖ **Inhibiteurs de protéases :**

L'administration concomitante d'Atorvastatine et d'inhibiteurs de protéases tels que le Saquinavir, le Ritonavir, et le Nelfinavir a entraîné une amélioration des concentrations plasmatiques d'Atorvastatine [21].

❖ **Itraconazole :**

Lors d'une co-administration d'Atorvastatine et l'Itraconazole, une forte exposition à l'Atorvastatine a été observée [21].

❖ **Midazolam :**

La prise concomitante d'Atorvastatine et de Midazolam provoque une diminution de la clairance plasmatique totale du Midazolam sans changement de volume de distribution [21].

❖ **Digoxine:**

L'utilisation de Digoxine avec de 80 mg d'Atorvastatine par jour augmente d'environ 20 % les concentrations plasmatiques de Digoxine et ceci est peut-être dû à l'inhibition de la protéine de transport transmembranaire ou glycoprotéine-P [21].

2.5. Interactions avec les aliments :

L'alimentation peut avoir un impact sur la pharmacocinétique du médicament, le taux d'absorption intestinale de l'Atorvastatine diminue considérablement en prenant un petit-déjeuner moyennement gras, avec un peu d'influence sur la quantité qui atteint la circulation systémique.

La concentration maximale plasmatique diminue remarquablement de 48 % et 13 % avec la prise simultanée des aliments. Un Tmax (temps nécessaire pour atteindre la Cmax) et une demi-vie d'élimination ($t_{1/2}$) entre 5,9 et 32 h. Par contre en absence d'alimentation, ces valeurs fluctuent entre 2,6 et 35,7 h.

L'administration de l'Atorvastatine avec les repas le soir, est caractérisée par une diminution du Cmax de 25 % et une augmentation du Tmax de 30 % par rapport à l'administration loin des repas.

L'absorption intestinale d'Atorvastatine est rapide après l'administration orale aux sujets qui jeûnent, ceci est dû à la haute solubilité avec un Tmax de 0,5 à 1,5 h [18].

L'Atorvastatine peut intervenir avec les furanocoumarines contenues dans le jus de pamplemousse qui va favoriser l'inhibition de leur métabolisme, la prise d'un seul verre de jus de pamplemousse a la possibilité d'inhiber l'activité CYP3A4 intestinale pendant une durée de 3 jours [22].

2.6. Effets indésirables :

Parmi les effets indésirables observés, on cite :

- Affections musculo-squelettiques et systémiques : myopathie, rhabdomyolyse, myalgie douloureuse avec une importante libération de créatine-kinase (> 2000 UI/l).
- Troubles gastro-intestinaux : constipation, dyspepsie, flatulence, douleurs abdominales, sont les plus fréquents observés.

- Troubles hépatiques : le dysfonctionnement hépatique est caractérisé par l'augmentation du taux sérique des transaminases (ALAT et ASAT). L'hépatotoxicité liée avec l'usage d'Atorvastatine est observée dans 1 % des cas.
- Affections du système nerveux : neuropathies démyélinisantes [20].

2.7. Contre-indications :

L'utilisation de l'Atorvastatine est contre-indiquée dans les cas suivants :

- ✓ Une hypersensibilité vis-à-vis de l'un des composants du médicament.
- ✓ Les patients qui souffrent d'une affection hépatique active.
- ✓ La prise d'Atorvastatine est contre-indiquée pendant la grossesse et l'allaitement et donc, les patientes en âge de procréer devraient prendre des mesures de contraception [17].

III. Validation d'une méthode d'analyse

1. Définition :

Selon la norme ICH (International Conference on Harmonisation), la validation d'une méthode analytique est définie comme étant une démarche critique contenant un ensemble des opérations nécessaires afin de s'assurer de la qualité, la fiabilité, et la validité d'un protocole utilisé, et ceci pour un usage précis.

2. Objectifs :

Selon l'ICH, l'objectif de la validation analytique est de prouver qu'elle correspond à l'utilisation à laquelle elle est destinée [23].

3. Domaines d'application de la validation analytique :

Au niveau européen, les différents domaines d'application de la validation analytique selon la note explicative III/844/87 en vue d'obtenir une autorisation de mise sur le marché concernent toute procédure d'analyse employée dans les différents chapitres de la documentation chimique, pharmaceutique et biologique définis par la directive 75/318/CEE, à savoir :

Le développement galénique, les contrôles en cours de fabrication, le contrôle de la matière première, le contrôle sur les produits intermédiaires de la fabrication et du produit fini, ainsi que les essais de stabilité [24].

4. Contexte réglementaire :

L'extension du principe de la validation des procédures analytiques dans les domaines d'activité où des mesures sont réalisées, a permis de mettre en œuvre des directives sur la validation des méthodes analytiques dans des publications comme les guidelines ICH, particulièrement le guideline ICH Q2(R1), le guideline publié en 2005: « Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology ». Le document donne un signe sur les données qui devraient exister dans un dossier d'enregistrement.

Alors le guideline ICH représente une exigence réglementaire face à toute validation de méthode analytique exprimée dans un dossier d'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché).

On trouve aussi des publications ne présentant pas des exigences réglementaires, et qui ont été formées dans le but d'aider à valider les procédures analytiques en se basant sur les recommandations réglementaires, pour avoir une AMM, comme les guides de validation analytique de la SFSTP (Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques) :

- ✓ SFSTP « Guide de validation analytique – Rapport d'une commission SFSTP » en 1992.
- ✓ SFSTP « Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques : stratégie de validation. Rapport d'une commission SFSTP » en 1997.
- ✓ SFSTP « Validation des procédures analytiques quantitatives : Harmonisation des démarches » [23].

5. Cycle de vie d'une méthode analytique :

Une validation d'une méthode analytique passe par plusieurs étapes interdépendantes. L'exemple d'une méthode de dosage peut se décomposer en quatre grandes phases successives :

- 1- Sélection de la méthode : dans cette phase, les objectifs et les conditions opératoires initiales sont définis.
- 2- Mise au point de la méthode : il s'agit d'une phase de développement de la méthode sélectionnée, avec ou sans optimisation au moyen de plans d'expériences. Il est nécessaire de suivre un cheminement précis pour maîtriser la programmation des essais et les délais.

- 3- Validation de la méthode : deux types de validations ont été distingués, la validation inter-laboratoire et la validation intra-laboratoire, la phase de validation peut être précédée par une phase de pré validation.
- 4- Usage en routine : c'est une phase de validation en routine et parfois d'une revalidation [4].

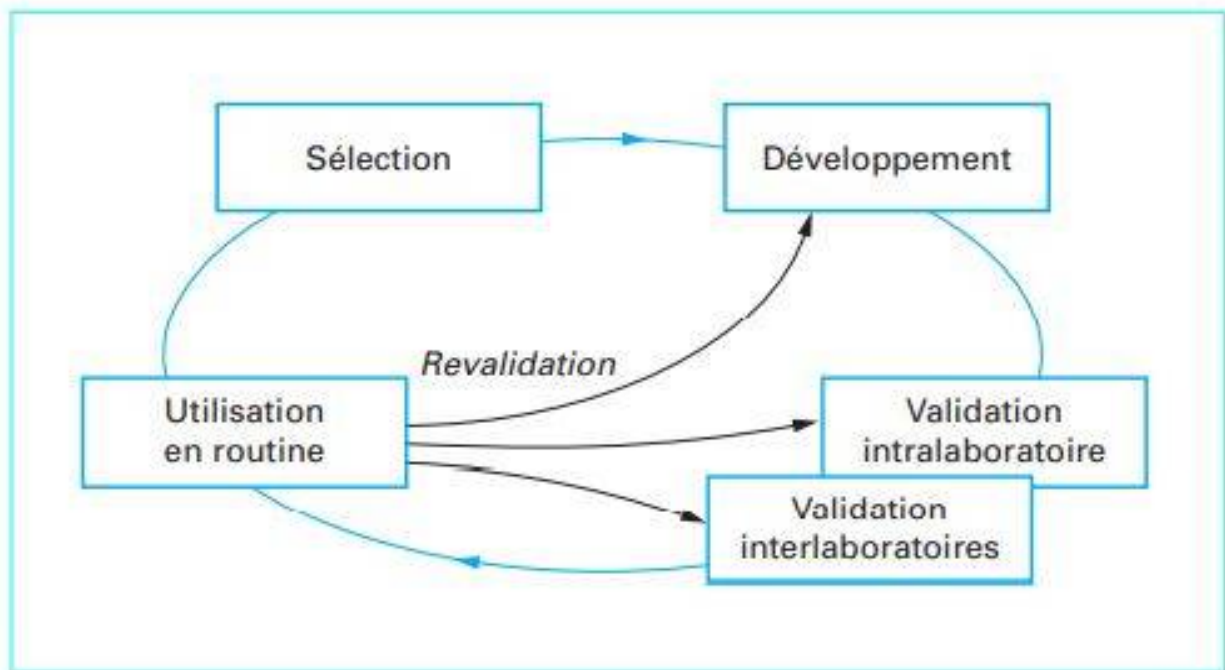


Figure 6 : Cycle de vie d'une méthode d'analyse [25]

6. Les critères de validation d'une procédure analytique :

Type de tests Caractéristiques	Dosage	Impuretés		Identification	Dosage bioanalyse
		Quantitatif	Essais limites		
Justesse	✓	✓			✓
Fidélité répétabilité	✓	✓			✓
Fidélité fidélité intermédiaire	✓	✓			✓
Spécificité Sélectivité	✓	✓	✓	✓	✓
Limite de détection		✓	✓		✓
Limite de quantification		✓			✓
Linéarité	✓	✓			Fonction de réponse
Gamme	✓	✓			✓
Robustesse	✓	✓	✓		✓

Figure 7 : Les critères de la validation analytique d'une méthode d'analyse [4].

6.1. Spécificité

La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité d'évaluer un analyte, en présence d'autres composés susceptibles de l'accompagner. Il s'agit de démontrer que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser, en se basant sur une absence d'interférences [26].

6.2. Linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse exprime la capacité d'une méthode à donner des résultats qui sont directement proportionnels à la concentration (quantité) introduite [27].

6.3. Exactitude (Justesse)

L'exactitude ou la justesse donne une indication sur les erreurs systématiques.

Selon l'ICH, l'exactitude est la mesure de l'étroite concordance entre la valeur trouvée dans un échantillon par la méthode et la valeur qui est adoptée soit comme une valeur de référence, soit comme une valeur conventionnellement vraie.

Selon la SFSTP, l'exactitude d'une procédure analytique correspond à l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue, et le résultat qui est retenu soit comme une valeur de référence acceptée, soit comme une valeur considérée comme véritable par convention, en appliquant plusieurs fois le procédé expérimental.

6.4. Fidélité (Précision) : ICH-SFSTP

La fidélité ou la précision d'une méthode analytique est définie comme le degré de dispersion entre des séries de mesures par des prises à partir d'un échantillon homogène dans des conditions prescrites. La fidélité donne une explication sur les erreurs aléatoires, elle est souvent exprimée par la variance, l'écart-type ou le coefficient de variation d'un ensemble de mesures.

Elle peut être exécutée à trois niveaux, à savoir la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la reproductibilité.

6.4.1. Répétabilité

La répétabilité ou précision intra-analyse se rapporte à des essais dans les mêmes conditions de réalisation, dans de courts intervalles de temps, par le même opérateur utilisant le même équipement, dans un même laboratoire.

6.4.2. Précision intermédiaire

La précision intermédiaire exprime la variabilité intra-laboratoire, les différents résultats obtenus par la même méthode en travaillant dans le même laboratoire, mais à des jours différents, en utilisant des appareils différents, avec différents opérateurs.

6.4.3. Reproductibilité

La reproductibilité exprime la fidélité en se basant sur des résultats d'études faites en collaboration par différents laboratoires, en employant des équipements différents, par des personnes différentes, dans différents laboratoires.

6.4.4. Robustesse : ICH-SFSTP

La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par une légère modification des conditions expérimentales (un ou plusieurs paramètres).

Elle donne une idée de la fiabilité de la procédure dans les conditions normales d'utilisation.

Dans la chromatographie en phase liquide, des exemples de variations caractéristiques sont :

- Influence de variation du pH de la phase mobile.
- Influence des variations dans la composition de phase mobile.
- Différentes colonnes.
- Température.
- Débit.

6.5. Limite de détection :

La limite de détection d'une procédure d'analyse correspond à la plus petite quantité à examiner détectée dans un échantillon de la substance analysée, sans obligatoirement donner la valeur exacte [28].

6.6. Limite de quantification :

La limite de quantification d'une méthode d'analyse représente un paramètre intervenant dans les analyses quantitatives où elle exprime la plus petite concentration d'un analyte dans un échantillon pouvant être évaluée avec un degré de précision et une exactitude admissible dans les conditions de fonctionnement indiquées de la méthode [29].

Selon l'ICH, elle est plus typiquement utilisée dans le dosage des impuretés et/ou des produits de dégradation.

IV. Chromatographie en phase liquide à haute performance

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) représente aujourd'hui un outil analytique majeur dans les industries modernes, appliqué à toutes les étapes de la découverte, le développement et la production de médicaments [30].

1. Principe

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) représente une technique analytique utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage de plusieurs constituants d'un mélange.

Le solvant qui contient les molécules à séparer (solutés), est entraîné par la phase mobile liquide (éluant), en se basant sur la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire contenue dans la colonne chromatographique, et en traversant la colonne, les différents produits sont distribués entre les deux phases (mobile et stationnaire), et la répartition de chaque composé est due à l'affinité avec chaque phase [15].

2. Appareillage

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) comprend plusieurs éléments, à savoir :

- ❖ **Un réservoir de la phase mobile (solvant):** contenant une quantité suffisante de solvants pour assurer un fonctionnement continu du système, ce réservoir peut contenir un système de dégazage et des filtres spéciaux pour isoler le solvant de l'environnement.
- ❖ **Un système de pompage :** elle permet d'effectuer un flux stable et continu de la phase mobile. La majorité des pompes modernes permettent un mélange contrôlé de différents solvants provenant de différents réservoirs.

- ❖ **Un système d'injection** : l'injecteur permet une introduction du mélange d'analyte dans le flux de la phase mobile avant son arrivée dans la colonne.
- ❖ **Une colonne** : C'est l'organe le plus important du système, elle représente le cœur de l'appareillage puisque c'est à cet endroit que elle s'effectue la séparation des analytes dans le mélange.
- ❖ **Un Détecteur** : Il s'agit d'un dispositif d'enregistrement continu de l'apparition des solutés. Qui a pour but de donner un signal électrique d'intensité proportionnelle à la quantité de produit élué.
- ❖ **Un système d'acquisition des données** : Il s'agit d'un système informatisé qui contrôle tous les paramètres de l'instrument HPLC et surveille les performances du système [30].



Partie pratique

VALIDATION ANALYTIQUE D'UNE METHODE DE DOSAGE DE L'ATORVASTATINE PAR HPLC DANS UNE FORME PHARMACEUTIQUE SOLIDE.

I. Introduction et objectifs

Une étude de la littérature a révélé que diverses méthodes analytiques telles que la spectrophotométrie extractive [31], la CG-SM [32], les méthodes HPTLC [33], la spectrométrie de masse en tandem [34-35] et les méthodes de HPLC ont été signalées pour l'estimation de l'Atorvastatine calcique dans les formes pharmaceutiques.

Un total de 88 articles ont utilisé les techniques de chromatographie liquide pour quantifier l'Atorvastatine dans ses formulations et ses fluides biologiques sont publiés. Sur l'ensemble des méthodes de chromatographie liquide rapportées, 34 % ont utilisé un détecteur UV, et 55 % ont utilisé un détecteur SM/SM. Alors que 38 % d'entre eux ont utilisé la procédure de précipitation des protéines, 33 % ont appliqué l'approche d'extraction liquide-liquide, et 12 % ont employé la technique d'extraction en phase solide pour la préparation des échantillons [36].

La méthode HPLC à détecteur UV est donc la méthode préférable pour l'analyse des médicaments et actuellement la méthode la plus largement acceptée pour la technique de séparation.

Le présent travail décrit une méthode de RP-HPLC simple, sensible, exacte et robuste pour le dosage de l'Atorvastatine dans les formes pharmaceutiques orales qui vise à minimiser la durée d'exécution par rapport à la méthode pharmacopée européenne originale. Toutefois, la mise en place de cette méthode nécessite la réalisation de la validation analytique, qui a fait l'objectif principal de ce travail.

La validation de la méthode proposée repose sur la vérification d'un certain nombre de critères selon la norme ICH Q2 dans le but d'avoir des résultats fiables, et de montrer que la méthode correspond à l'utilisation pour laquelle elle est proposée. La partie pratique est consacrée à la méthodologie du travail, aux conditions expérimentales et au traitement des résultats et leurs discussions.

Les traitements statistiques ont été réalisés avec le logiciel Excel, qui nous a permis de programmer les formules mathématiques qui correspondent aux différents tests utilisés.

II. Matériels et méthodes

1. Description de la méthode d'analyse

1.1. Equipement

Le système chromatographique HPLC-UV utilisé est de marque waters, modèle Alliance qualifié, constitué d'une pompe, un échantillonneur automatique, un dégazeur intégré, un détecteur UV Visible, et un système d'acquisition de données Empower3.

Pour réaliser notre validation, on avait besoin d'une Balance calibrée, et d'un pH-mètre calibré et d'un filtre en Nylon (0,45 μm).

1.2. Réactifs et solutions

- Eau purifiée (grade Milli-Q)
- Hydroxyde d'ammonium (grade AR)
- Acétonitrile (grade HPLC)
- Tetrahydrofuran : THF (grade HPLC)
- Acide citrique anhydre.
- Substance de référence : Atrovastatine calcique trihydraté SCR.

1.3. Conditions Chromatographiques

Les conditions chromatographiques utilisées sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau III : Conditions chromatographiques

Colonne	Waters Symmetry C18, (250 mm X 4.6 mm), 5 μm
Débit	1,5 ml/min
Volume d'injection	20 μl
Détection	UV, 242 nm
Température de la colonne	30 °C
Mode de pompe	Isocratique
Temps d'acquisition	20 min
Phase mobile	Mélange d'Acétonitrile, de Tétrahydrofurane et de Tampon (27: 20: 53 v/v/v)

1.4. Les paramètres de validation

Les paramètres validés dans notre travail sont les suivants :

Tableau IV : Les paramètres de validation de la méthode analytique de dosage

Paramètres de validation	Vérification
Spécificité - (Etude d'interférence)	+
Linéarité	+
Exactitude	+
Fidélité (Répétabilité et Fidélité intermédiaire)	+
Robustesse	+

1.5. Protocole de validation par caractéristiques

Tableau V : Protocole de validation et critères d'acceptation par paramètre

Paramètre	Protocole	Critères d'acceptation
Système suitability	Préparations de deux standards (deux prises d'essais indépendantes pour déterminer le facteur de similarité) Solution standard 1 (n=5 injections) Solution standard 2 (n=2 injections)	Tailing factor $\geq 1,5$ Nombre de plateaux théoriques ≥ 2000 CV aires Standard 1 $\geq 2,0$ Facteur de similarité $0,98 \leq t \leq 1,02$
Spécificité	Blanc Placebo Impuretés Essai et placebo dopé par le PA	Absence de pic au temps de rétention de la substance active.

Linéarité	Solutions étalon dans le domaine d'analyse (5 niveaux de concentration). Traçage d'un graphe surface du pic SA=f (concentrations) Calcul du Coefficient de corrélation, la pente et l'intercept.	$R^2 \geq 0,999$ Pas de tendance systématique dans le graphe des résidus.
Exactitude	5 niveaux de concentration de solutions indépendantes à partir de placebo surchargé par la substance active.	La moyenne du pourcentage de recouvrement par valeur cible doit être comprise entre 98,0 et 102,0 % Le CV % des pourcentages de recouvrement doit être ≤ 2.0 %.
Répétabilité	Préparer et injecter 6 solutions indépendantes Calcul de la teneur individuelle en SA de chaque solution et la teneur moyenne Calcul de CV pour les six préparations	Le CV des six prises d'échantillons préparés indépendamment doit être $\leq 2,0\%$.
Fidélité intermédiaire	Préparer et injecter 6 solutions indépendantes supplémentaires en utilisant HPLC et colonne différente, analystes différents à un jour différent. Calcul : ✓ CV de répétabilité moyenne ✓ CV de la fidélité intermédiaire	Le CV de répétabilité moyenne et celui de la fidélité intermédiaire doivent être $\leq 2,0\%$.
Robustesse	Comparaison du changement des conditions chromatographiques avec les conditions normales. Déterminée sur 5 séquences. ✓ Débit ± 10 % ✓ Température ± 5 °C	L'écart entre les teneurs obtenues avec chaque séquence de conditions changées et celui obtenu avec la séquence de condition normale doit être inférieur ou égales à 2.0 %.

2. Solution standard et préparation d'échantillons :

Préparation de la phase mobile :

Préparer un mélange d'Acétonitrile, de Tétrahydrofurane et de Tampon (27: 20 : 53 v/v/v), et dégazer.

Préparation du Tampon (0.05 M de citrate d'ammonium à pH 4.0): dissoudre 9,62 g d'Acide citrique anhydre dans 1000 mL d'eau, ajuster avec de l'Hydroxyde d'ammonium à un pH égal à 4.0, mélanger et filtrer la solution à travers un filtre de 0,45 µm.

Préparation des solutions :

❖ **Tampon PH 7.4** : 9,62 g d'acide citrique anhydre dans 1000 mL d'eau, ajustement avec de l'hydroxyde d'ammonium à un pH de 7.4, mélange et filtration de la solution à travers un filtre de 0,45 µm.

❖ **Diluant** : mélange de tampon pH 7,4 et d'Acétonitrile (50: 50 v/v).

❖ **Solution mère** : 51.7 mg d'Atorvastatine calcique trihydratée (standard de référence), dans une fiole jaugée de 50 mL, dissolution à l'aide de l'ultrasons puis ajustement au volume avec le diluant et mélange.

❖ **Solution standard** : dilution de 10 ml de la solution mère d'Atorvastatine à 100 ml avec du diluant, puis mélange.

❖ **Solution Placebo** : 100 mg de la poudre placebo dans une fiole jaugée de 100 ml puis dissolution à l'ultrasons pendant 25 min. Dilution de 5 ml du filtrats dans une fiole jaugée de 50 ml avec le diluant puis homogénéisation de la solution.

❖ **Solution échantillon** : pesage de 20 comprimés et détermination du poids moyen. Ecrasement des comprimés en poudre fine et transfert d'une quantité équivalente à environ 100 mg d'Atorvastatine à 100 ml dans une fiole jaugée. Dissolution à l'ultrason pendant 25 min, puis ajustement au volume avec le diluant, mélange puis filtration. Dilution de 5 ml du filtrat dans une fiole jaugée de 50 ml avec le diluant puis agitation pour homogénéiser la solution.

3. Système de suitability :

Avant de procéder à l'analyse de validation du dosage de l'Atorvastatine dans la forme pharmaceutique, il est nécessaire de vérifier la conformité du système avant de valider les résultats d'analyse.

La séquence d'analyse appliquée pour chacun des paramètres de validation analytique consiste à injecter et enregistrer les chromatogrammes : du blanc (diluant), la solution standard en cinq répétitions, et la préparation des échantillons. Il devrait se conformer avec les critères d'adéquation du système mentionné.

Tableau VI : Critères de conformité du système

Paramètre	Normes
Tailing factor (pic d'Atorvastatine)	$\geq 1,5$
Efficacité/nombre de plateaux théoriques (pic d'Atorvastatine)	$N \geq 2000$
CV aires Standard 1	$\leq 2,0\%$
Facteur de similarité entre la solution standard 1 et la solution standard 2	$0,98 \leq t \leq 1,02$

4. Formule de calcul :

$$\text{Atorvastatine (mg/comprimé)} = \frac{\text{At} \times \text{Ms} \times 10 \times 100 \times 50 \times \text{Pm} \times 1117,28 \times \text{P}}{\text{As} \times 50 \times 100 \times \text{Mt} \times 5 \times 100 \times 1155,36}$$

Avec :

At : Aire moyenne du pic de l'Atorvastatine dans le chromatogramme de la solution échantillon.

As : Aire moyenne du pic de l'Atorvastatine dans le chromatogramme de la solution standard.

Ms : Poids moyen d'Atorvastatine calcique trihydratée par mg.

Mt : Poids de l'échantillon prélevé en mg.

Pm : Poids moyen d'un comprimé, en mg.

P : Pureté de l'Atorvastatine calcique trihydratée.

1117,28 : Poids moléculaire de l'Atorvastatine X 2.

1155,36 : Poids moléculaire de l'Atorvastatine calcium.

III. Résultats

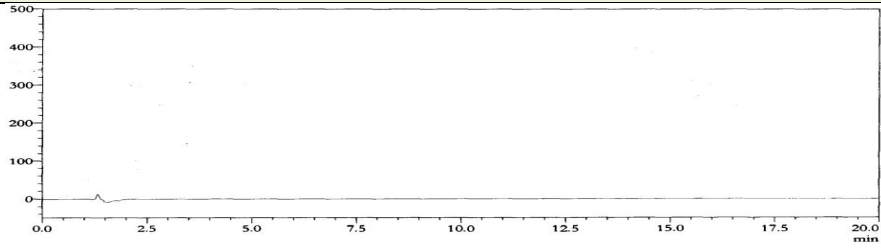
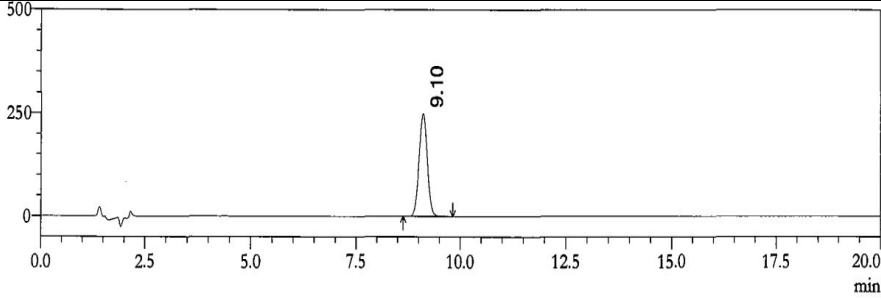
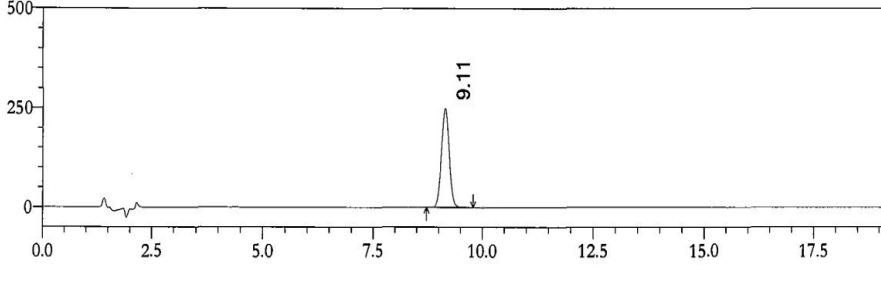
1. Spécificité

La spécificité permet de s'assurer de l'absence d'interférence entre les pics relatifs à l'Atorvastatine dans la solution STD, et ceux relatifs au placebo, et au blanc.

Le blanc, la solution placebo, la solution standard et la solution de l'échantillon ont été préparés comme décrit dans la méthodologie. Les solutions d'impuretés et le placebo dopé par le principe actif ont été préparés conformément à la limite de spécification, et injectés.

La spécificité est conduite par HPLC par un analyste en un jour.

Les résultats obtenus sont présentés comme suit.

Echantillon	Chromatogramme	TR
Blanc		-
Solution standard (atorvastatine)		9,10
Solution Echantillon		9,11

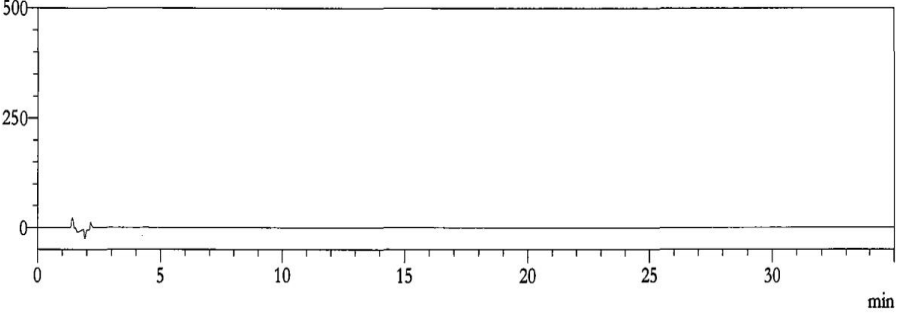
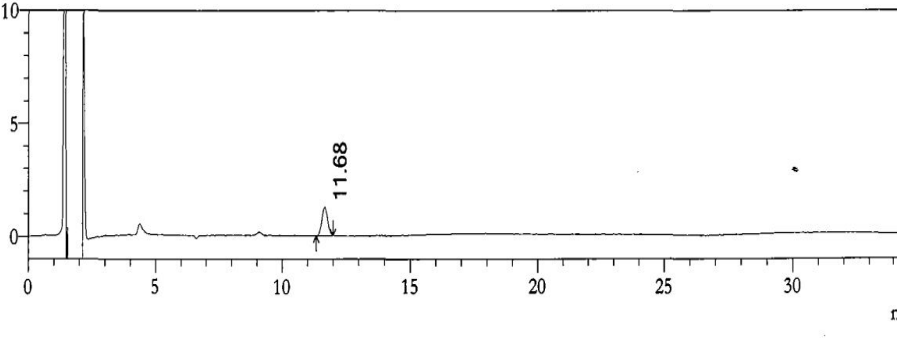
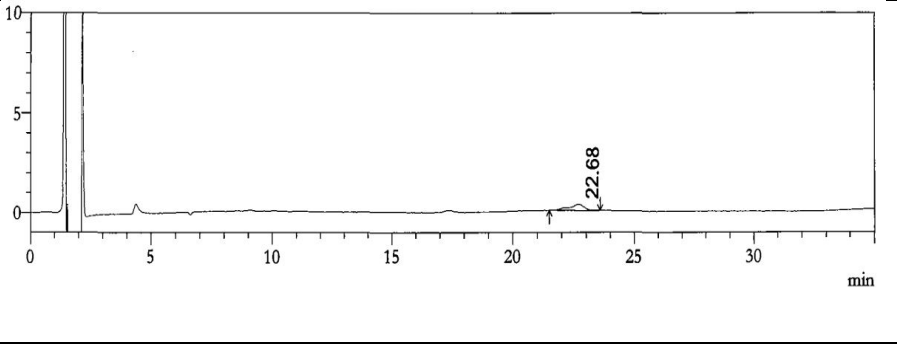
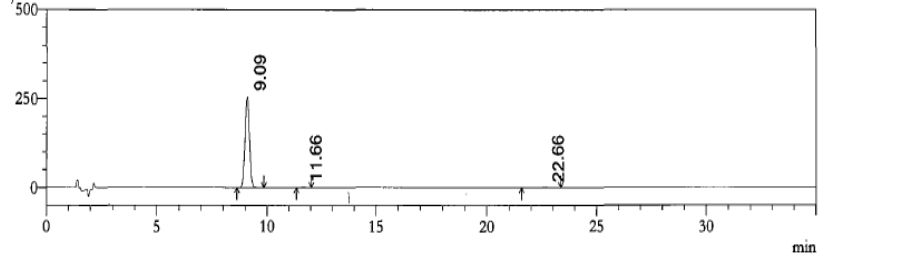
Echantillon	Chromatogramme	TR
Placebo		-
Impureté H de l'atorvastatine		11,68
Impureté D de l'atorvastatine		22,68
Solution placebo dopé par le PA		9,09

Figure 8 : Résultats du test de spécificité

- Le chromatogramme de l'Atorvastatine montre un pic intégré avec un temps de rétention de 9,09 min pour la solution placebo dopé par le PA et un temps de rétention de 9,11 min pour la solution échantillon.
- Le chromatogramme du blanc ne met en évidence aucun pic.
- Le temps de rétention de chacune des impuretés D et H n'interfère pas avec celui de l'Atorvastatine.
- Le chromatogramme du placebo des comprimés de l'Atorvastatine 80 mg ne met en évidence aucun pic au temps de rétention de l'Atorvastatine obtenu dans le chromatogramme du standard d'atorvastatine.

On conclut que la méthode de dosage de l'Atorvastatine pour les comprimés d'Atorvastatine 80 mg est spécifique.

2. Linéarité

L'étude de la linéarité du dosage du standard d'Atorvastatine a été évaluée à 5 niveaux (50 %, 80 %, 100 %, 120 % et 150 %). Une série de solutions ont été préparées par dilutions quantitatives de la solution mère de l'étalon pour obtenir des solutions comme mentionné dans le tableau ci-dessous.

Nous avons réalisé 3 séries indépendantes de 5 concentrations différentes.

Chaque solution a été injectée et la surface du pic a été enregistrée.

La linéarité a été effectuée par un seul analyste en une seule journée.

La Pente, interception Y, le coefficient de corrélation de la droite de régression et la somme résiduelle des carrés ont été calculés. Et les valeurs de la concentration, de la surface du pic et de la concentration corrigée sont présentées dans le résultat tables. Un graphique de la surface du pic en fonction de la concentration corrigée (ppm) a été tracé.

Les résultats de linéarité sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VII : Résultats de la linéarité du standard d'atorvastatine

Niveau (%)	Quantité introduite de l'Atorvastatine calcium (ppm)	Quantité introduite de l'Atorvastatine (ppm)	Aire du pic Atorvastatine	Moyenne des aires de pic d'Atorvastatine
50	51,7	47,45	2527287	2521284
	51,8	47,54	2512025	
	51,5	47,26	2524540	
80	82,9	76,09	4205812	4198747
	82,7	75,90	4189200	
	82,6	75,80	4201230	
100	103,5	94,98	5351058	5293694
	103,4	94,89	5275225	
	103,6	95,08	5254800	
120	124,1	113,89	6326580	6325208
	124,08	113,87	6352458	
	124,23	114,01	6296588	
150	154,56	141,84	8008446	8016345
	154,59	141,87	8015444	
	154,51	141,80	8025145	

Régression linéaire

Statistiques de la régression	
Coefficient de détermination R ²	0,999616874
Erreur-type	39179,3871
Observations	15

Analyse de variance

	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Signification de F	Signification de F < 0.05
Régression	1	5,20655E+13	5,20655E+13	33918,3765	1,34406E-23	conforme
Résidus	13	19955316929	1535024379			
Total	14	5,20855E+13				

	Coefficients	Erreur-type	Statistique t	Probabilité	Limite inférieure pour seuil de confiance = 95%	Limite supérieure pour seuil de confiance = 95%
Ordonnée à l'origine (b)	-217553,7416	31472,07842	-6,912595306	1,06486E-05	-285545,033	-149562,4498
Pente (a)	57885,73486	314,3069778	184,1694234	1,34406E-23	57206,71592	58564,75381

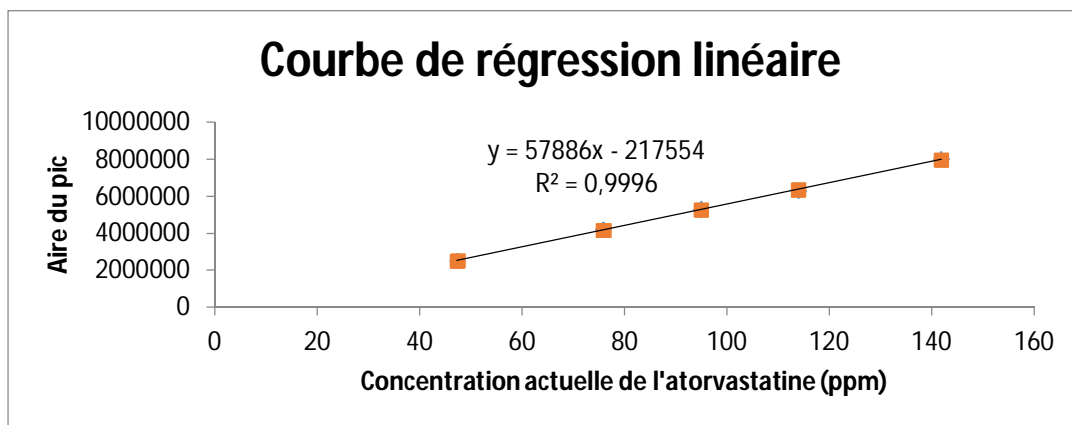


Figure 9 : Courbe de régression linéaire

Analyse des résidus

L'analyse des résidus est effectuée sur chaque point de la régression linéaire : voir détails ci-dessous.

Tableau VIII : Résultats de l'analyse des résidus

Prise d'essai	Réponse prévisionnelle	Résidus	Résidus relatifs
1	2529124,378	-1837,37767	-0,07264877
2	2534334,094	-22309,0938	-0,88027438
3	2518126,088	6413,911953	0,254709722
4	4186971,824	18840,17585	0,449971403
5	4175973,535	13226,46547	0,316727713
6	4170184,961	31045,03896	0,744452326
7	5280433,356	70624,64429	1,337478187
8	5275223,64	1,36042319	2,57889E-05
9	5286221,929	-31421,9292	-0,59441184
10	6375052,602	-48472,602	-0,76034827
11	6373894,887	-21436,8873	-0,3363232
12	6381998,89	-85410,8902	-1,33830939
13	7994695,463	13750,53655	0,171995752
14	7990643,462	24800,53799	0,310369723
15	7992958,891	32186,1086	0,402680772
		Norme	-2.0% à 2.0%
		Moyenne	0,006%

Le graphe ci-dessous, montre la répartition aléatoire des résidus par rapport aux quantités théoriques :

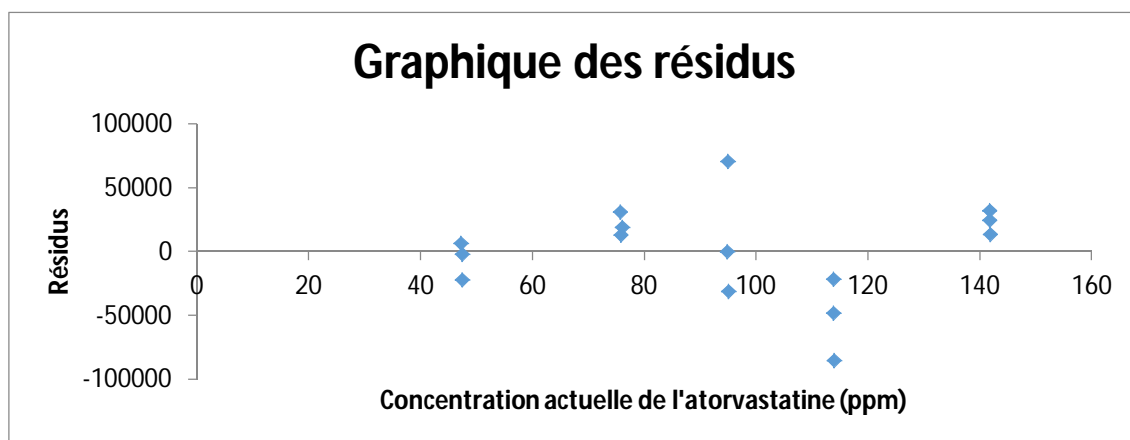


Figure 10 : Graphique des résidus

Tableau IX : Récapitulatif des résultats

Critère	Résultats	Critères d'acceptation	Conforme/Non conforme
Pente (mVs (mg/ml)-1)	-217553,7416	Non applicable	Non applicable
Ordonnée à l'origine	57885,73486	Non applicable	Non applicable
Coefficient de corrélation	0,9996	≥ 0.997	Conforme
Analyse des résidus	Pas de tendance systématique	Pas de tendance systématique	Conforme

Au vu des paramètres cités dans le paragraphe précédent, on conclut que l'étude de linéarité de la méthode du dosage de l'Atorvastatine dans les comprimés d'Atorvastatine 80 mg montre une régression linéaire conforme, avec un coefficient de corrélation de 0.9996 et une équation de linéarité suivante :

$y = 57885,7 x - 217553,7416$ et met en évidence une analyse de résidus conforme avec des résidus petits et aléatoires.

3. Exactitude

L'exactitude a été évaluée par la préparation des échantillons reconstitués du placebo et d'Atorvastatine dans une gamme de concentrations égale à 50 %, 80 %, 100 %, 120 % et 150 % de la teneur théorique de principe actif. Pour chaque concentration, nous avons réalisé trois essais dans chaque concentration.

Le pourcentage de recouvrement a été calculé pour chacune des solutions préparées et le recouvrement moyen a été déterminé.

Critères d'acceptation :

- Le pourcentage de recouvrement pour tous les échantillons doit être compris entre 98,0 et 102,0 %.

- La moyenne du pourcentage de recouvrement par valeur cible doit être comprise entre 98,0 et 102,0 %.

- Le CV% des pourcentages de recouvrement doit être ≤ 2.0 %.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau X : Résultats du test de l'exactitude du dosage de l'atorvastatine

Niveau	Quantité introduite de l'Atorvastatine calcium (mg)	Quantité introduite de l'Atorvastatine (mg)	Quantité trouvée l'Atorvastatine (mg)	% de recouvrement	% de recouvrement moyen
50%	51,70	47,446	47,83	100,8	100,6
	51,80	47,538	47,55	100,0	
	51,50	47,263	47,78	101,1	
80%	82,90	76,079	76,57	100,6	100,7
	82,70	75,896	76,27	100,5	
	82,60	75,804	76,49	100,9	
100%	103,50	94,984	97,42	102,6	101,5
	103,40	94,892	96,04	101,2	
	103,60	95,076	95,67	100,6	
120%	124,10	113,889	115,18	101,1	101,1
	124,08	113,871	115,65	101,6	
	124,23	114,009	114,63	100,5	
150%	154,56	141,843	143,98	101,5	101,6
	154,59	141,871	144,11	101,6	
	154,51	141,797	144,42	101,8	
				Moyenne	101,1
				CV%	0,7
				IC 95 (±)	0,35

Tous les recouvrements individuels se situent dans les critères d'acceptation de 98,0 % à 102,0 %.

La moyenne globale des recouvrements se situe dans une fourchette de 98,0 % à 102,0 %.

La moyenne globale des recouvrements appartient à l'intervalle de confiance à 95 [100,7 % ; 101,4 %].

Le CV% des pourcentages de recouvrement est de 0,7 % qui sont inférieurs à la norme fixée ≤ 2.0 %.

Sur la base des résultats de recouvrement obtenus ci-dessus, il est conclu que la méthode est exacte.

4. Fidélité

4.1. Répétabilité

La répétabilité est évaluée en préparant six préparations indépendantes d'échantillons au niveau 100 % qui correspond à l'équivalent de 100 mg en Atorvastatine à partir d'un même échantillon homogène tel que décrit dans la méthodologie et injecté.

Le CV des six prises d'échantillons préparés indépendamment doit être $\leq 2,0$ %.

Les résultats obtenus pour l'analyse sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau XI : Résultats du test de répétabilité du dosage de l'atorvastatine

Niveau	Quantité introduite en atorvastatine Calcium (mg)	Quantité introduite Atorvastatine (mg)	Quantité retrouvée Atorvastatine (mg)	Aire du pic Atorvastatine	Recouvrement (%)
100%	103,50	94,984	95,1476	5125893	100,2
	103,60	95,076	97,2024	5236588	102,2
	103,23	94,736	95,1394	5125448	100,4
	103,87	95,324	96,7561	5212544	101,5
	103,67	95,140	94,644	5098758	99,5
	103,46	94,947	96,794	5214589	101,9
				Moyenne	101,0
				CV	1,1
				IC95 (±)	0,9

Le CV des résultats de répétabilité pour six préparations d'échantillons individuels est conforme au critère d'acceptation de 2,0 %. Donc la méthode de dosage de l'Atorvastatine est répétable.

4.2. Fidélité intermédiaire

En plus de la série d'analyse de répétabilité, nous avons réalisé une série supplémentaire d'analyse sur 6 prises d'essai indépendantes de la même façon que pour l'essai de répétabilité (fidélité 2).

La série supplémentaire est réalisée par un technicien différent (analyste 2) dans un jour différent, en utilisant une autre HPLC et colonne différente.

Le CV de répétabilité moyenne et celui de la fidélité intermédiaire doivent être $\leq 2,0\%$.

Les résultats obtenus pour le % d'analyse et les données comparatives globales sont présentés dans les tableaux suivants.

Tableau XII : Résultats du test de Fidélité 2 du dosage de l'atorvastatine

Niveau	Quantité introduite en atorvastatine Calcium (mg)	Quantité introduite Atorvastatine en (mg)	Quantité retrouvée Atorvastatine en (mg)	Aire du pic Atorvastatine	Recouvrement (%)
100%	103,40	94,993	93,0436	5012544	97,9
	103,52	95,103	94,6440	5098758	99,5
	103,89	94,443	93,2857	5025586	97,7
	103,54	95,122	96,9854	5224898	102,0
	103,68	95,250	96,3238	5189258	101,1
	103,71	94,278	93,0873	5014898	97,7
				Moyenne	99,3
				CV	1,9
				IC95 (\pm)	1,5

Tableau XIII : Résultats du test de Fidélité intermédiaire

	Analyste 1 (Jour 1)	Analyste 2 (Jour 2)
Essai 1	100,2	97,9
Essai 2	102,2	99,5
Essai 3	100,4	97,7
Essai 4	101,7	102,0
Essai 5	99,5	101,1
Essai 6	101,9	97,7
Moyenne	101,0	99,3
Variance	1,2	3,5
Écart type	1,1	1,9
CV%	1,1	1,9
IC95 (±)	0,9	1,5

Répétabilité Moyenne	100,1
Moyenne des variances de répétabilité	2,3
Variance des moyennes de répétabilité	1,3
Moyenne des carrés (ANOVA)	0,2
Intervalle de confiance (±)	1,0
Variance intergroupe	0,9
CV Répétabilité moyenne	1,5%
CV de la Fidélité intermédiaire	1,8 %

L'écart-type relatif des résultats de l'essai pour six préparations d'échantillons individuels est conforme au critère d'acceptation de 2,0 % au maximum.

Les coefficients de variance entre les résultats moyens des essais obtenus en termes de répétabilité et de fidélité intermédiaire sont compris dans les critères d'acceptation de 2,0 %.

Sur la base des résultats ci-dessus, il est conclu que la méthode du dosage de l'Atorvastatine dans les comprimés de l'Atorvastatine 80 mg est fidèle, avec un CV % de répétabilité moyenne de 1,5 % et un CV % de fidélité intermédiaire est de 1,8 %.

5. Robustesse

La méthode d'analyse a été réalisée comme décrit dans la méthodologie et en réalisant des changements dans les conditions chromatographiques :

~ Changement de la température du four à colonne ± 5 °C.

~ Modification du débit ± 10 %

Pour que notre méthode soit considérée comme robuste. L'écart entre les teneurs obtenues avec chaque séquence de conditions changées et celui obtenu avec la séquence de condition normale doit être inférieur ou égales à 2.0 %.

Les résultats de la robustesse de la méthode de dosage à valider sont déterminés sur 5 séquences et sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau XIV : Paramètres modifiés pour le test de robustesse

Paramètre	Séquence 1	Séquence 2	Séquence 3	Séquence 4	Séquence 5
Température de la colonne (°C)	30	30	30	25	35
Débit (ml/min)	1.5	1.35	1.65	1.5	1.5
Observations	Paramètres de la méthode de dosage	Débit -10%	Débit +10%	Température -5°C	Température +5°C

Les résultats obtenus pour le test de robustesse sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau XV : Résultats du test de robustesse de la méthode de dosage de l'atorvastatine

Niveau de concentration %	Quantité introduite en Atorvastatine calcium (mg)	Quantité introduite en atorvastatine (mg)	Aires de l'atorvastatine	Quantité retrouvée (ppm)	Recouvrement %	Moyenne du recouvrement
Séquence 1	103,5	94,984	5602364	95,832	100,89	99,6
	103,4	94,892	5534038	93,316	98,34	
Séquence 2	103,5	94,984	5523223	95,777	100,83	101,0
	103,4	94,892	5526791	95,912	101,07	
Séquence 3	103,5	94,984	5409209	93,658	98,6	99,1
	103,4	94,892	5429216	94,435	99,52	
Séquence 4	103,5	94,984	5210755	95,821	100,88	101,0
	103,4	94,892	5214628	95,989	101,16	
Séquence 5	103,5	94,984	5483344	94,749	99,75	100,1
	103,4	94,892	5497375	95,284	100,41	
			Moyenne	95,1	100,1	
			Ecart type	1,0	1,0	
			CV (%)	1,0	1,0	

D'après ce tableau, on remarque que le coefficient de variation obtenu avec les différentes séquences de changement et celui obtenu avec la séquence de condition normale est inférieur à 2.0 %. Donc, notre méthode est robuste vis-à-vis du changement de débit et de température.

6. Système de suitabilité

Les solutions standards (standard 1 et standard 2) ont été préparées et injectées avant le démarrage de chaque paramètre de validation, comme décrit dans la méthodologie, les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau XVI : Conformité de système de chaque analyse

Paramètres de validation	Temps de rétention (min)	Nombre de plateaux théoriques	Tailing factor	CV des aires standard 1	Similarité entre standard 1 et standard 2
Spécificité	9,10	7525	1,02	0,4	1,1
Linéarité	9,14	7580	1,01	0,1	1,0
Exactitude	9,18	7359	1,01	0,09	1,1
Répétabilité	9,12	7459	1,05	0,2	1,0
Fidélité 2	9,25	9984	1,02	0,5	1,0
Robustesse	9,09	6458	1,02	0,7	1,1

En Conclusion, la méthode de détermination du dosage de l'Atorvastatine, à partir de comprimés d'Atorvastatine calcique a été validée.

La méthode a été évaluée pour sa spécificité, sa linéarité, ainsi que pour sa précision, exactitude et robustesse. La méthode a répondu à tous les critères d'acceptation tels que définis dans le protocole de validation de la méthode.

On peut donc conclure que la méthode est adaptée à l'usage auquel elle est destinée, c'est-à-dire pour déterminer le dosage de l'Atorvastatine, à partir de comprimés d'Atorvastatine Calcique 80 mg.

IV. Discussion

Il y a eu beaucoup d'intérêt dans le transfert des méthodes de dosage de l'Atorvastatine par HPLC décrites dans les pharmacopées américaine et européenne, à des méthodes de dosage plus simples, plus courtes et plus économiques.

Nous avons utilisé dans notre étude une méthode de dosage de l'Atorvastatine dans les comprimés de l'Atorvastatine 80 mg, simple, sensible et en même temps rapide. La validation de notre méthode a été réalisée par le suivi des recommandations de validation de l'ICH.

La technique de dosage de l'Atorvastatine adoptée par notre étude est celle par HPLC avec détecteur UV-Visible à une longueur d'onde de 242 nm, nous avons utilisé les conditions de travail suivantes : une colonne C18 de longueur 250 mm et de diamètre interne de 4,6 mm, 5 μ m, la température de la colonne de 30 °C, et un mode d'élution isocratique avec un débit de 1,5 ml/min, et un volume d'injection de 20 μ l. La phase mobile est formée par de l'Acétonitrile, de Tétrahydrofurane et de tampon de Citrate d'Ammonium. Nous avons donc choisi une phase mobile polaire, et une phase stationnaire apolaire ce qui permet l'élution de l'Atorvastatine.

En se référant à la bibliographie, on remarque que plusieurs méthodes d'analyse de l'Atorvastatine sont utilisées pour le dosage d'Atorvastatine seule ou associée à d'autres molécules.

Les tableaux ci-dessous, montrent les différentes méthodes d'analyse trouvées dans la littérature.

Tableau XVII : Méthodes de dosage de l'Atorvastatine trouvées dans la littérature

Etudes	<i>Pharmacopée européenne</i> [15]	<i>D.A.Shah et al.</i> 2007 [37]	<i>Sangshetti et al.</i> 2012 [38]	<i>Alam et al.</i> 2018 [39]	<i>Croitoru et al.</i> 2015 [40]	<i>Bhingé et al.</i> 2013 [41]
Méthode de validation	HPLC en phase inversée avec détecteur UV-Visible	HPLC en phase inversée avec détecteur UV-Visible	HPLC en phase inversée avec détecteur UV-Visible	HPLC en phase inversée avec détecteur UV-Visible	HPLC en phase inversée avec détecteur UV-Visible	HPLC en phase inversée avec détecteur UV-Visible

La méthode de dosage utilisée dans notre étude rejoint les méthodes de dosage adoptées par la majorité des auteurs pour le dosage d'Atorvastatine seule ou associée à d'autres molécules. Cependant, autres méthodes de dosage peuvent être utilisées comme le dosage spectrofluorimétrique [42], le dosage par spectrophotométrie UV-visible [43], et le dosage par chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC) en phase normale [44].

Quant aux réactifs utilisés pour la validation de la méthode, dans l'étude de *Sangshetti et al.* Le Méthanol a été remplacé par l'Acétonitrile au niveau de la phase mobile, ce dernier a montré une meilleure réponse. Les données des réactifs et solutions des différentes méthodes d'analyse sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau XVIII : Comparaison des réactifs et solutions des différentes méthodes d'analyse trouvées dans la littérature avec notre étude

Etudes	Notre étude	<i>D.A.Shah</i> et al 2007 [37]	<i>Sangshetti</i> et al 2012 [38]	<i>Alam</i> et al 2018 [39]	<i>Croitoru</i> et al 2015 [40]
Réactifs et solutions	Eau purifiée Acétonitrile Acide citrique anhydre. Hydroxyde d'ammonium Tetrahydrofuran THF	Eau purifiée Acétonitrile Méthanol Acide phosphorique Phosphate de potassium monobasique	Eau purifiée Acétonitrile Méthanol Acide phosphorique	Eau purifiée. Acétonitrile Méthanol Acide phosphorique	Eau purifiée Acétonitrile Méthanol Acide phosphorique

Les conditions chromatographiques du dosage de l'Atorvastatine par HPLC de notre étude ont été comparées aux études ayant utilisé la méthode d'analyse d'Atorvastatine seule ou en association.

Les résultats de cette comparaison sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XIX : Étude comparative des conditions chromatographiques de dosage de l'Atorvastatine par HPLC

Etudes	Notre étude	<i>Pharmacopée européenne</i> [15]	<i>D.A.Shah</i> et al. 2007 [37]	<i>Sangshetti</i> et al. 2012 [38]	<i>Alam</i> et al. 2018 [39]	<i>Croitoru</i> et al. 2015 [40]
Colonne	Waters Symmetry C18, (250 mm X 4.6 mm), 5 µm	CI8, (250 mm X 4.6 mm), 10 µm	Symmetry CI8, (250 mm X 4.6 mm), 5 µm	ZORBAX SB-C18 (150 mm X 4.6 mm), 5 µm	Symmetry CI8, (250 mm X 4.6 mm), 5 µm	Hypersil colonne C18 (250 mm X 4.6 mm), 5 µm
Débit	1,5 ml/min	1,0 mL	1,0 ml/ min	1,0 ml/ min	1,8ml/ min.	1,0 ml/ min.
Volume d'injection	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl
Détection	UV, 242 nm	UV, 244 nm	UV, 240 nm	UV, 261 nm	UV, 247 nm	UV, 220 nm
Température de la colonne	30 °C	Ambiante	20-25 °C	18 °C	25 °C	25°C
Mode de pompe	Isocratique	Isocratique	Isocratique	Isocratique	Isocratique	Gradient
Temps d'acquisition	20 min	1,2 fois le TR de l'Atoravstatine	15 min	10 min	-	20 min
Phase mobile	Mélange d'Acétonitrile, de Tétrahydrofurane et de Tampon (27: 20: 53 v/v/v) pH de 4,0	Acide trifluoroacétique R, Éthanol anhydre R, Hexane R (0,1:6:94 V/V/V).	Dihydrogénophosphate de potassium et Méthanol (20 : 80), ajustement à un pH de 4,0 par l'acide phosphorique	Acétonitrile et eau distillée (85:15), ajustement à un pH de 4,5 par l'acide phosphorique	Mélange de Méthanol, eau, l'Acétonitrile (85:10:4,1 v/v), ajustement à un pH de 3,2 par l'acide phosphorique	Mélange d'Acétonitrile de Méthanol et de Tampon.

On constate que les conditions chromatographiques de notre méthode sont presque similaires à celles trouvées dans la bibliographie, Contrairement à l'étude de *Croitoru* et al. qui utilise une longueur d'onde de 220 nm et un mode d'élution gradient.

L'étude de *Sangshetti* et al. emploie également des conditions chromatographiques qui se différencient un peu de celle de notre étude : une colonne de 150 mm en longueur, par rapport à celle utilisée dans notre étude (250 mm), et une longueur d'onde différente avec une basse température ce qui permet un temps d'analyse court et donc un temps de rétention acceptable.

Dans la majorité des études publiées, la méthode HPLC en phase inverse a été utilisée pour quantifier l'Atorvastatine à l'aide des colonnes analytiques C18 en raison de la présence de pyrrole et de phényle en tant que groupes fonctionnels aromatiques qui rendent l'analyse appropriée par la méthode en phase inverse [45]. Cependant, certains travaux publiés ont utilisé la colonne C8 comme phase stationnaire.

La comparaison des méthodes HPLC développées à celle de la pharmacopée européenne montre que la plupart des études se sont intéressées à la réduction de la taille des particules de la colonne allant de 10 μm à 5 μm . Les particules superficiellement poreuses de 5 μm ont une efficacité élevée, ce qui s'explique principalement par une distance de transfert de masse plus courte et une distribution granulométrique plus étroite. En outre, la taille plus importante des particules entraîne une contre-pression plus faible, ce qui permet d'utiliser ces colonnes sur pratiquement tous les systèmes CL. Le transfert de colonne de diamètre élevé à des colonnes de petites particules présente des économies de temps et de coûts très importantes, car les particules superficiellement poreuses sont traitées de manière optimale à des débits plus rapides et atteignent une résolution similaire avec une longueur de colonne beaucoup plus courte.

La phase mobile qui a été utilisée dans la quantification de l'Atorvastatine seule ou associée, est principalement composée d'Acétonitrile, de Méthanol, d'eau et de différentes solutions tampon qui ont soit une élution isocratique, soit une élution par gradient avec un débit de 1 ml min⁻¹. La rétention de l'analyte dans la colonne d'analyse dépend du pH de l'élution, de sorte que dans les essais rapportés, le pH de la phase mobile a été maintenu entre 4 et 4,5 pour permettre une meilleure rétention de l'analyte dans la colonne d'analyse et améliorer la résolution du pic, car ces valeurs de pH sont inférieures à la valeur pKa de l'Atorvastatine, ce dernier reste sous forme non ionisée pendant plus longtemps et interagit d'avantage avec la phase stationnaire [45].

Le temps de rétention de l'Atorvastatine indiqué dans le tableau ci-dessous varie de 2,19 à 10,99 min. La longueur d'onde du détecteur UV utilisé pour détecter l'AT varie de 220 à 261 nm, mais il est courant d'utiliser 247 nm comme longueur d'onde de détection. Or, *Tekkeli* et al. quantifient l'Atorvastatine en utilisant la détection fluorimétrique à l'excitation et une longueur d'onde d'émission de 282 et 400 nm, respectivement [46]. Dans la plupart des méthodes HPLC développées, le TR est compris entre 2 et 5 min.

D'après cette comparaison, on peut penser à une optimisation des conditions chromatographiques en effectuant des changements mineurs sur les conditions de la colonne, de la température, et/ou de la longueur d'onde ou de la phase mobile afin de réduire le temps d'acquisition et donc augmenter le nombre d'analyses à réaliser. La méthode de validation de notre étude ainsi que ceux de littérature reposent sur 5 critères de validation : spécificité, linéarité, exactitude, précision, et robustesse conformément aux directives de validation de l'ICH.

Le tableau suivant compare les temps de rétention et les résultats de linéarité obtenus dans différentes études trouvées dans la bibliographie.

Tableau XX : Comparaison des paramètres de spécificité et linéarité de notre étude avec ceux de la littérature

Etude	Spécificité TR de l'Atorvastatine (min)	Linéarité
Notre étude	9,11	R ² = 0,999
<i>D.A.Shah et al 2007</i> [37]	5,4	R ² = 0,9982
<i>Sangshetti et al 2012</i> [38]	6,092	R ² = 0,999
<i>Alam et al 2018</i> [39]	2,19	R ² =0,999
<i>Croitoru et al 2015</i> [40]	10,998	R ² =0,9994

Dans tous les cas, la méthode de dosage était spécifique avec des temps de rétention de l'Atorvastatine différents, allant de 2,19 min à 10,998 min. L'étude d'Alam et al. représente le temps de rétention le plus faible, presque 4 fois moins le temps de rétention obtenu par notre étude.

On observe également une très bonne linéarité entre la concentration retrouvée et les aires de pic dans la totalité des études. Toutes les valeurs du coefficient de corrélation sont largement supérieures à la valeur limite.

Tableau XXI : Comparaison des paramètres d'exactitude, de précision et robustesse de notre étude avec ceux de la littérature

Etude	Exactitude	Précision	Robustesse
Notre étude	3 solutions indépendantes de 5 niveaux de concentration à partir de placebo surchargé par la substance active. Taux de recouvrement = 101,1%	6 solutions indépendantes du niveau 100 % en utilisant HPLC et colonne différente, analyste différent à un jour différent. Réalisé en deux jours. CV de la fidélité intermédiaire = 1,8 %	La robustesse a été étudiée avec les modifications suivantes : changement de débit, et de température.
<i>D.A.Shah</i> et al 2007 [37]	3 solutions indépendantes de 3 niveaux de concentration Taux de recouvrement = 98.02 - 100.68 %.	3 essais pour 3 concentrations différentes pendant 3 jours. CV répétabilité = 0.59 - 0.95% CV fidélité intermédiaire = 1.14 - 3.82%.	La robustesse a été étudiée avec les modifications suivantes : changement de la composition de la phase mobile, le pH ± 0.2 , observation de la stabilité pendant 24 h.
<i>Sangshetti</i> et al 2012 [38]	3 solutions indépendantes de 5 niveaux de concentration de	3 essais pour 3 concentrations différentes pendant 3 jours	La robustesse a été étudiée avec les

	solutions indépendantes à partir de placebo surchargé par la substance active. Taux de recouvrement = 98.93 – 101.16 %.	CV répétabilité = 0,45 % CV fidélité intermédiaire = 0,88 %.	modifications suivantes : changement de la longueur d'onde de détection, le pH et le débit.
<i>Alam et al</i> 2018 [39]	3 concentrations de la teneur théorique de principe actif. Taux de recouvrement = 101.5 %.	6 essais pendant 2 jours CV répétabilité = 0,0039 % CV fidélité intermédiaire = 0,003 %.	La robustesse a été étudiée avec les modifications suivantes : changement de la longueur d'onde de détection, la composition de la phase mobile, le pH et le débit.
<i>Croitoru et al</i> 2015 [40]	3 essais de 3 concentrations de la teneur théorique de principe actif. Taux de recouvrement = 90 – 99 %.	3 essais pour 4 concentrations différentes pendant 3 jours. CV de fidélité intermédiaire = 0,40 - 6,90 %.	La robustesse de la méthode a été réalisée par changements du débit ($\pm 0,1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) et le pH ($\pm 0,2$ unités). L'écart en % à la longueur d'onde est de 0,05 à 0,06 %.

Les résultats de précision de notre étude rejoignent ceux d'*Alam et al.* qui ont réalisé l'étude en 2 jours. Or, ce travail est réalisé en 3 jours dans les autres études.

La robustesse de notre méthode est évaluée avec modification de la température et du débit, tandis que, dans d'autres travaux, les modifications concernent également la composition de la phase mobile, la longueur d'onde de détection et le pH (*Alam et al.*), ce qui confirme que les méthodes sont robustes vis-à-vis des différents changements des conditions chromatographiques.

V. Conclusion

Pour réaliser les analyses de routine par les laboratoires de contrôle des médicaments, il est préférable de développer et valider des méthodes simples, capables d'analyser un grand nombre d'échantillons avec une bonne précision et une bonne exactitude et surtout en peu de temps.

La méthode HPLC utilisée dans notre travail répond à ces critères, elle a été évaluée pour sa spécificité, sa linéarité, ainsi que pour sa précision, exactitude et robustesse et a été jugée valide et adaptée à l'usage auquel elle est destinée.

Un bon accord a été constaté dans la méthodologie et les résultats de notre travail et ceux de la littérature, avec des changements mineurs au niveau des conditions chromatographiques.

En conclusion, nous pouvons dire que toutes les propositions des méthodes d'analyse par HPLC en phase inverse avec détecteur UV sont une bonne approche pour obtenir des résultats fiables et ont été jugées appropriées pour l'estimation de routine de l'Atorvastatine dans le secteur pharmaceutique.



Dans nos jours, la validation des procédures analytiques est indispensable dans différents domaines qui génèrent des résultats de mesures. Elle figure parmi les mesures reconnues à l'échelle mondiale, comme faisant inévitablement partie d'une structure exhaustive d'assurance qualité.

Pourtant, bien que ce principe soit devenu substantiel à la gestion de la qualité au sein de l'industrie pharmaceutique, son application pratique n'est pas toujours facile.

Les résultats issus des méthodes d'analyse jouent un rôle primordial dans différents domaines en réponse aux décisions qui sont prises sur leur base telles que la détermination de la qualité des spécialités pharmaceutiques.

La finalité de notre étude était de valider une nouvelle méthode analytique permettant le dosage d'Atorvastatine dans une forme pharmaceutique solide, par chromatographie en phase liquide à haute performance. C'est l'un des médicaments hypocholestérolémiants les plus répandus au monde.

En se basant sur les recommandations du référentiel pharmaceutique ICH Q2, nous avons vérifié cinq paramètres fondamentaux dans la validation d'une méthode de dosage, la spécificité, la linéarité, l'exactitude, la fidélité, et la robustesse, en se référant aux critères d'acceptation pour chaque paramètre, le traitement des résultats fondés sur des tests statistiques et leurs discussions, on peut conclure que la méthode est spécifique, linéaire, juste, fidèle, et robuste.

En guise de conclusion, la méthode de dosage d'Atorvastatine par chromatographie liquide à haute performance est validée, et cette validation permet de donner aux autorités compétentes des garanties suffisantes que les mesures qui seront effectuées ultérieurement en routine avec cette méthode seront suffisamment proches de la vérité.

Ainsi, la méthode peut être utilisée comme une méthode de routine dans le laboratoire de contrôle de la qualité.



RESUME

Titre : Validation analytique d'une méthode de dosage de l'atorvastatine

Auteur : BELABDA Saad

Directeur de la thèse : Professeur BOUATIA Mustapha

Mots clés : Validation analytique, Atorvastatine, Dosage, HPLC

La validation des méthodes analytiques est une étape basique pour les laboratoires pharmaceutiques pour se soumettre aux exigences réglementaires au cours de la réalisation d'un dossier d'autorisation de mise sur le marché.

L'objectif de ce travail réalisé au sein du laboratoire Pharmaceutical Institute, est la validation d'une nouvelle méthode analytique permettant le dosage d'Atorvastatine dans une forme pharmaceutique solide par HPLC.

Le dosage d'Atorvastatine par HPLC permet de quantifier la teneur de ce principe actif dans le produit fini. Cependant, avant de l'utiliser en routine, on a procédé à la validation de cette méthode.

Lors de la démarche de validation, l'industriel est guidé par des recommandations internationales. Dans notre étude, la validation analytique a été réalisée selon la norme ICH Q2.

Les résultats obtenus ont permis de confirmer la validité de notre méthode, en se basant sur des critères essentiels tels que la spécificité, la linéarité, la fidélité, l'exactitude, et la robustesse. Ces critères sont fondés sur des tests statistiques qui permettent d'évaluer la fiabilité de la méthode utilisée.

ABSTRACT

Title : Analytical validation of an atorvastatin assay method

Author : BELABDA Saad

Thesis supervisor : Professor BOUATIA Mustapha

Keywords : Analytical validation, Atorvastatin, Assay, HPLC

The analytical's validation is a basic step for pharmaceutical companies wishing to comply with the regulatory requirements in order to obtain a marketing authorization application.

The objective of this work, which was carried out at the Pharmaceutical Institute laboratory, is the validation of a new analytical method for the determination of Atorvastatin in a solid pharmaceutical form by HPLC.

The assay of Atorvastatin by hplc allows the quantification of the content of this active ingredient in the finished product. However, prior to routine use, this method was validated.

During the validation process, The manufacturer is guided by international recommendations. In our study, the analytical validation was carried out according to the ICH Q2 standard.

The results confirmed the validity of our method, bases on essential criteria such as specificity, linearity, precision, accuracy, and robustness. These criteria are based on statistical tests that assess the reliability of the method used.

ملخص

العنوان: التحقق التحليلي من منهجية لمقايسة الأتورفاستاتين

المؤلف: بلعبدة سعد

مدير الأطروحة: الأستاذ بوعطية مصطفى

الكلمات المفتاحية: التحقق التحليلي، أتورفاستاتين، مقايسة، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء.

يعتبر التحقق التحليلي من منهجيات القياس خطوة أساسية أمام مختبرات الصيدلة، بغية الامتثال للمتطلبات التنظيمية من أجل إنشاء ملف طرح في السوق.

الهدف من هذا العمل الذي أنجز في مختبر معهد الصيدلة، هو التحقق التحليلي من منهجية جديدة لمقايسة الأتورفاستاتين في شكل دوائي صلب بواسطة تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء.

تمكن مقايسة الأتورفاستاتين بواسطة تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء من قياس محتوى المادة النشطة في الصيغة النهائية للدواء.

في إطار خطوات التحقق يجب الاستعانة بالتوصيات الدولية، وفي هذا الصدد اعتمدنا في دراستنا على

معييار ICH Q2

وقد ساعدت النتائج التي تحققت على إثبات منهجنا استنادا إلى معايير أساسية مثل الخصوصية والدقة والقوة وتستند هذه المعايير إلى اختبارات إحصائية لتقييم موثوقية المنهجية المستخدمة.



Références

- [1]. AUBRETON R. Contribution à l'optimisation des méthodologies. La validation analytique et ses limites: pré-requis, exigences, méthodes, application. [En ligne].Thèse. Université de Limoges, 2000, 169p. Disponible sur : <http://aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/704bd083-a953-4e0f-b93c-eee9732a0475/blobholder:0/P2000313.pdf>
- [2]. <http://dmp.sante.gov.ma/> Consulté le 1 Janvier 2021
- [3]. Bouklouze A, Digua K. DEMARCHE STATISTIQUE DE LA VALIDATION ANALYTIQUE DANS LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE (Méthodologie et exemple pratique). Les technologies de laboratoire [Internet]. 2006 [cité 5 févr 2021];1(1). Disponible sur: <https://revues.imist.ma/index.php/technolab/article/view/320>
- [4]. KAOUNI H. Etude comparative de la validation analytique d'une méthode de dosage d'amlodipine besilate dans une spécialité pharmaceutique Par HPLC/UV Démarche classique vs nouvelle approche. Thèse. UNIVERSITE MOHAMMED V, Rabat, 2010, 154p.
- [5]. ENDO A. A historical perspective on the discovery of statins. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 11 mai 2010;86(5):484-93.
- [6]. Laslett LJ, Alagona P, Clark BA, Drozda JP, Saldivar F, Wilson SR, et al. The Worldwide Environment of Cardiovascular Disease: Prevalence, Diagnosis, Therapy, and Policy Issues. Journal of the American College of Cardiology. déc 2012;60(25):S1-49.
- [7]. <https://medicament.ma/> Consulté le 10 février 2021
- [8]. Pharmaceutical Institute : <http://www.phi.ma/>. Consulté le 9 février 2021
- [9]. Róg T, Pasenkiewicz-Gierula M, Vattulainen I, Karttunen M. Ordering effects of cholesterol and its analogues. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. janv 2009;1788(1):97-121.
- [10]. DAVID J.-C. Biochimie métabolique. Paris : Lavoisier; 1995, p.240-241 11.

- [11]. Weinman S, Méhul P. Toute la biochimie. Paris: Dunod; 2004, 466p.
- [12]. Steinberg D. An interpretive history of the cholesterol controversy, part V: The discovery of the statins and the end of the controversy. 2006; 47: 1339-1351.
- [13]. DELVALLEE Elodie, Effets pléiotropes et perspectives thérapeutiques des statines dans le domaine cardiovasculaire. Thèse de doctorat, Université de LORRAINE, faculté de pharmacie, 2012, 181p.
- [14]. Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *Atherosclerosis Supplements*. oct 2004;5(3):67-80.
- [15]. Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) 10e Édition.
- [16]. Pharmacopée Américaine (USP) édition 41.
- [17]. McIver LA, Siddique MS. Atorvastatin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cité 12 févr 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430779/>
- [18]. Lea AP, McTavish D. Atorvastatin: A Review of its Pharmacology and Therapeutic Potential in the Management of Hyperlipidaemias. *Drugs*. mai 1997;53(5):828-47.
- [19]. Farnier M. Histoire des statines. *Médecine des Maladies Métaboliques*. oct 2013;7(5):407-12.
- [20]. Sonje VM, Kumar L, Meena CL, Kohli G, Puri V, Jain R, et al. Atorvastatin Calcium. In: Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology [Internet]. Elsevier; 2010 [cité 14 nov 2020]. p. 1-70. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871512510350011>
- [21]. Lennernäs H. Clinical Pharmacokinetics of Atorvastatin. *Clin Pharmacokinet*. 1 nov 2003;42(13):1141-60.

- [22]. Mouly S, Mahé I, Jarrin I, Bergmann J-F. Influence du jus de pamplemousse sur la toxicité des statines en pratique clinique. *Sang Thrombose Vaisseaux*. 1 mai 2004;16(5):249-52.
- [23]. L'International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (l'ICH): Validation des methods d'analyse : Texte et méthodologie
- [24]. CAPORAL-GAUTIER, J, J. M. NIVET, P. ALGRANTI, M. GUILLOTEAU, M. HISTE, M. LALLIER, J. J. N'GUYEN-HUU, et R. RUSSOTTO. « Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP. I: Méthodologie». *Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP. I: Méthodologie* 2, no 4 (1992): 205-26.
- [25]. Feinberg, Max. « Validation interne des méthodes d'analyse ». *Tech. de l'Ingénieur*, 1 janvier 2001, 224-28.
- [26]. Fabre, H. « Validation des méthodes d'électrophorèse capillaire appliquées à l'analyse des composés pharmaceutiques ». *Analisis* 27, no 2 (mars 1999): 155-155. <https://doi.org/10.1051/analisis:1999270155>.
- [27]. Shabir, Ghulam A. « 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 ». *J. Chromatogr. A*, 2003, 10. 57-66p.
- [28]. Araujo P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B*. 1 août 2009;877(23):2224-34.
- [29]. Peters, F. T., Drummer, O. H. & Musshoff, F. Validation of new methods. *Forensic Sci. Int.* 2007; 165 : 216-224p.

- [30]. Kazakevich, Y., & LoBrutto, R. HPLC for pharmaceutical scientists. New York: Wiley-Intersciencer; 2007, (Vol. 43), 1135p. Consulté le 9 février 2021. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/0470087951>.
- [31]. Erk N. Extractive spectrophotometric determination of atorvastatin in bulk and pharmaceutical formulations. *Anal Lett* 2003;36:2699-711.
- [32]. McKenney JM, McCormick LS, Weiss S, Koren M, Kafonek S, Blanck DM. A randomized trial of the effects of atorvastatin and niacin in patients with combined hyperlipidaemic or isolated hypertriglyceridemia, collaborative atorvastatin study group. *Am J Med* 1998;104:137-43.
- [33]. Yadav SS, Mhaske DV, Kakad AB, Patil BD, Kadam SS, Dhaneshwar SR. Simple and sensitive HPTLC method for determination of content uniformity of atorvastatin calcium tablet. *Indian J Pharm Sci* 2005;67:182-8.
- [34]. Miao XS, Metcalfe CD. Determination of cholesterol lowering statin drugs in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatography A* 2003;998:133-41.
- [35]. Bullen WW, Miller RA, Hayes RN. Development and validation of a high performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry assay for atorvastatin, ortho-hydroxy atorvastatin and para-hydroxy atorvastatin in human, dog and rat plasma. *J Am Soc Mass Spectrom* 1999;10:55-66.
- [36]. Wadhwa K, Rana AC. A review on liquid chromatographic methods for the bioanalysis of atorvastatin. *Futur J Pharm Sci.* déc 2021;7(1):4.
- [37]. Shah¹ DA, Bhatt² KK, Mehta² RS, Shankar² MB, Baldania¹ SL, G T, et al. Development and validation of a RP-HPLC method for determination of atorvastatin calcium and aspirin in a capsule dosage form. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2007;69(4):546.

- [38]. Sangshetti JN, Aqeel M, Zaheer Z, Ahmed RZ, Dehghan MHG, Gonjari I. Development and validation of RP-HPLC method for determination of Atorvastatin calcium and Nicotinic acid in combined tablet dosage form. *Journal of Saudi Chemical Society*. sept 2016;20:S328-33.
- [39]. Alam S, Saleem S, Naveed S, Dilshad H, Qamar F, Alam T, et al. HPLC Method Development and Validation of Atorvastatin Calcium in Bulk and Tablet Dossage Form. 2018; 6(1), 83-87p.
- [40]. Croitoru O, Spiridon A-M, Belu I, Turcu-Știolică A, Neamțu J. Development and Validation of an HPLC Method for Simultaneous Quantification of Clopidogrel Bisulfate, Its Carboxylic Acid Metabolite, and Atorvastatin in Human Plasma: Application to a Pharmacokinetic Study. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2015;2015:1-12.
- [41]. Bhinge SD, Malipatil SM, Jondhale A, Savali AS. Simultaneous Estimation of Atorvastatin Calcium and Fenofibrate in Rabbit Plasma by RP-HPLC. *Asian J Chem*. 2013;25(2):981-5.
- [42]. Sharaf El-Din MMK, Salama FMM, Nassar MWI, Attia KAM, Kaddah MMY. Validated spectrofluorimetric method for the determination of atorvastatin in pharmaceutical preparations. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. juin 2012;2(3):200-5.
- [43]. Bhavyasri DK, Surekha T, Rambabu DD. Bioanalytical Method Development and Validation of Atorvastatin in Human Plasma by Using UV -Visible Spectrophotometry. *J Pharm Sci*. 2019;11:4.
- [44]. Deshmukh T, Deo S. DEVELOPMENT AND VALIDATION OF NOVEL HPTLC METHOD FOR THE SIMULTANEOUS ESTIMATION OF ATORVASTATIN CALCIUM AND TELMISARTAN IN TABLET DOSAGE FORM. 2018;10.

- [45]. Crevar-Sakač M, Vujić Z, Brborić J, Kuntić V, Uskoković-Marković S. An Improved HPLC Method with the Aid of a Chemometric Protocol: Simultaneous Determination of Atorvastatin and Its Metabolites in Plasma. *Molecules*. 25 févr 2013;18(3):2469-82.
- [46]. Tekkeli E, Durmus Z, Onal A. Determination of Atorvastatin in Human Plasma by Magnetic Solid Phase Extraction Combined to HPLC and Application to a Pharmacokinetic Study. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 24 déc 2016; 39.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.
 - D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -



قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي

- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.

- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.

- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.

- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.

- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



أطروحة رقم: 35

سنة : 2021

التحقق التحليلي من منهجية لمقايسة الأتورفاستاتين

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : / / 2021

من طرف

السيد سعد بلعابدة

المرداد في 18 شتنبر 1995 في الرباط

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية : التحقق التحليلي؛ أتورفاستاتين؛ مقايسة؛ الكروماتوغرافيا
السائلة عالية الأداء

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس	السيد سمير أحييد أستاذ في علم الصيدلة
مشرف	السيد مصطفى بوعطية أستاذ في الكيمياء التحليلية والبروماتولوجيا
عضو	السيد رشيد نجاري أستاذ في علم الصيدلة النباتية
عضو	السيد ميلود القربان أستاذ في الكيمياء التحليلية والبروماتولوجيا