

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

**ANNEE: 2013**

**THESE N°: 87**

**DEVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UNE METHODE DE DOSAGE  
DU DICLOFENAC SODIQUE PAR UV-VISIBLE :  
ESSAIS DE DECONTAMINATION PAR DES ADSORBANTS NATURELS**

**THESE**

*Présentée et soutenue publiquement le :.....*

**PAR**

**Mr. SALEY LAWAN Mahaman Missibahou**  
*Né le 03 Mai 1989 à Tahoua (NIGER)*

**Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie**

**MOTS CLES** : UV-Visible – Optimisation – Validation – Diclofénac sodique – Adsorption.

**JURY**

<b>Mr. Y. CHERRAH</b> Professeur de Pharmacologie	<b>PRESIDENT</b>
<b>Mr. A. BOUKLOUZE</b> Professeur des Applications Pharmaceutiques	<b>RAPPORTEUR</b>
<b>Mr. M. ANSAR</b> Professeur de Chimie Organique et Pharmacie Chimique	} <b>JUGES</b>
<b>Mr. MY. ABBES FAOUZI</b> Professeur de Pharmacologie	
<b>Mr. M. ELMRABET</b> Professeur de Chimie à l'IAV Hassan II- Rabat	<b>INVITE</b>

17 JUIN 2013



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

**DOYENS HONORAIRES :**

**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 :**

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI  
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes  
Professeur Mohammed AHALLAT  
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération  
Professeur Jamal TAOUFIK  
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie  
Professeur Jamal TAOUFIK  
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**PROFESSEURS :**

*Mai et Octobre 1981*

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Pr. TAOBANE Hamid\* Chirurgie Thoracique

**Mai et Novembre 1982**

Pr. ABROUQ Ali\* Oto-Rhino-Laryngologie  
Pr. BENSOUHA Mohamed Anatomie  
Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique  
Pr. LAHBABI Naïma Physiologie

*Novembre 1983*

Pr. BELLAKHDAR Fouad Neurochirurgie  
Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI Rhumatologie

*Décembre 1984*

Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil Radiothérapie  
Pr. MAAOUNI Abdelaziz Médecine Interne  
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi Anesthésie - Réanimation  
Pr. SETTAF Abdellatif Chirurgie

*Novembre et Décembre 1985*

Pr. BENJELLOUN Halima  
Pr. BENSALD Younes  
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa  
Pr. IRAQI Ghali

Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie  
Pneumo-phtisiologie

*Janvier, Février et Décembre 1987*

Pr. AJANA Ali  
Pr. CHAHED OUZZANI Houria  
Pr. EL YAACOUBI Moradh  
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah  
Pr. LACHKAR Hassan  
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Neurologie

*Décembre 1988*

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib  
Pr. DAFIRI Rachida  
Pr. HERMAS Mohamed  
Pr. TOLOUNE Farida\*

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie  
Médecine Interne

*Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990*

Pr. ADNAOUI Mohamed  
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali\*  
Pr. CHAD Bouziane  
Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda  
Pr. TAZI Saoud Anas

Médecine Interne  
Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Neurologie  
Anesthésie Réanimation

*Février Avril Juillet et Décembre 1991*

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENABDELLAH Chahrazad  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOUDA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Hématologie  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie

Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. JANATI Idrissi Mohamed\*  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

Histologie Embryologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Pharmacologie  
Chimie thérapeutique

### **Décembre 1992**

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOUA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DAOUDI Rajae  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Gynécologie Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

### **Mars 1994**

Pr. AGNAOU Lahcen  
Pr. BENCHERIFA Fatiha  
Pr. BENJAAFAR Nouredine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
Métaboliques  
Pr. EL AMRANI Sabah  
Pr. EL AOUAD Rajae  
Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. EL IDRISSE Lamghari Abdennaceur  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha

Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies  
Gynécologie Obstétrique  
Immunologie  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Chirurgie Générale  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie – Orthopédie

Pr. MOUDENE Ahmed\*  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

Traumatologie- Orthopédie  
Gynécologie –Obstétrique  
Dermatologie

### **Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BRAHMI Rida Slimane  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham  
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
Pr. EL ABBADI Najia  
Pr. HANINE Ahmed\*  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

Urologie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Neurologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Gynécologie – Obstétrique  
Traumatologie – Orthopédie  
Radiologie  
Ophtalmologie  
Neurochirurgie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie

### **Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz  
Pr. BARGACH Samir  
Pr. BEDDOUCHE Amokrane\*  
Pr. CHAARI Jilali\*  
Pr. DIMOU M'barek\*  
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine\*  
Pr. EL MESNAOUI Abbas  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. FERHATI Driss  
Pr. HASSOUNI Fadil  
Hygiène  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. IBRAHIMY Wafaa  
Pr. MANSOURI Aziz  
Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Urologie  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Préventive, Santé Publique et  
  
Cardiologie  
Urologie  
Ophtalmologie  
Radiothérapie  
Ophtalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

### **Décembre 1996**

Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
Pr. BOULANOVAR Abdelkrim	Ophthalmologie
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

### **Novembre 1997**

Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
Pr. KADDOURI Noureddine	Chirurgie Pédiatrique
Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

### **Novembre 1998**

Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
Pr. LAZRAK Khalid *	Traumatologie Orthopédie

Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*  
Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

### **Janvier 2000**

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENCHERIF My Zahid  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHAOUI Zineb  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. EL OTMANY Azzedine  
Pr. HAMMANI Lahcen  
Pr. ISMAILI Mohamed Hatim  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

### **Novembre 2000**

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AIT OURHROUI Mohamed  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. BENCHEKROUN Nabiha  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL IDGHIRI Hassan  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Métaboliques  
Pr. HSSAIDA Rachid\*  
Pr. LAHLOU Abdou  
Pr. MAFTAH Mohamed\*  
Pr. MAHASSINI Najat  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Neurochirurgie  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie

Pr. NASSIH Mohamed\*  
Faciale  
Pr. ROUIMI Abdelhadi

Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-  
Neurologie

**Décembre 2001**

Pr. ABABOU Adil  
Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BELMEKKI Mohammed  
Pr. BENABDELJLIL Maria  
Pr. BENAMAR Loubna  
Pr. BENAMOR Jouda  
Pr. BENELBARHDADI Imane  
Pr. BENNANI Rajae  
Pr. BENOUACHANE Thami  
Pr. BENYOUSSEF Khalil  
Pr. BERRADA Rachid  
Pr. BEZZA Ahmed\*  
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
Pr. BOUHOUCHE Rachida  
Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
Pr. CHAT Latifa  
Pr. CHELLAOUI Mounia  
Pr. DAALI Mustapha\*  
Pr. DRISSI Sidi Mourad\*  
Pr. EL HIJRI Ahmed  
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
Pr. EL MADHI Tarik  
Pr. EL MOUSSAIF Hamid  
Pr. EL OUNANI Mohamed  
Pr. ETTAIR Said  
Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
Pr. GOURINDA Hassan  
Pr. HRORA Abdelmalek  
Pr. KABBAJ Saad  
Pr. KABIRI EL Hassane\*  
Pr. LAMRANI Moulay Omar  
Pr. LEKEHAL Brahim  
Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
Pr. MEDARHRI Jalil  
Pr. MIKDAME Mohammed\*  
Pr. MOHSINE Raouf  
Pr. NOUINI Yassine  
Pr. SABBAH Farid

Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Ophtalmologie  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Dermatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Rhumatologie  
Anatomie  
Cardiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie-Pédiatrique  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie-Pédiatrique  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Thoracique  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Médecine Interne  
Chirurgie Générale  
Hématologie Clinique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Chirurgie Générale

Pr. SEFIANI Yasser  
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Pédiatrie

**Décembre 2002**

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
Pr. AMEUR Ahmed \*  
Pr. AMRI Rachida  
Pr. AOURARH Aziz\*  
Pr. BAMOU Youssef \*  
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
Métaboliques  
Pr. BENZEKRI Laila  
Pr. BENZZOUBEIR Nadia\*  
Pr. BERNOUSSI Zakiya  
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya  
Pr. CHOHO Abdelkrim \*  
Pr. CHKIRATE Bouchra  
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
Pr. EL BARNOUSSI Leila  
Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
Pr. EL MANSARI Omar\*  
Pr. ES-SADEL Abdelhamid  
Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
Pr. HADDOUR Leila  
Pr. HAJJI Zakia  
Pr. IKEN Ali  
Pr. ISMAEL Farid  
Pr. JAAFAR Abdeloihab\*  
Pr. KRIOUILE Yamina  
Pr. LAGHMARI Mina  
Pr. MABROUK Hfid\*  
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid\*  
Pr. NAITLHO Abdelhamid\*  
Pr. OUJILAL Abdelilah  
Pr. RACHID Khalid \*  
Pr. RAISS Mohamed  
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
Pr. RHOU Hakima  
Pr. SIAH Samir \*  
Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

Anatomie Pathologique  
Urologie  
Cardiologie  
Gastro-Entérologie  
Biochimie-Chimie  
Endocrinologie et Maladies  
  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Anatomie Pathologique  
Psychiatrie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Chirurgie Pédiatrique  
Gynécologie Obstétrique  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Urologie  
Traumatologie Orthopédie  
Traumatologie Orthopédie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Néphrologie  
Anesthésie Réanimation  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale

### **Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
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. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KARMANE Abdelouahed  
Pr. KHABOUZE Samira  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. LEZREK Mohammed\*  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. SASSENOU ISMAIL\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

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

### **Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Nouredine\*  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENHALIMA Hanane  
Pr. BENHARBIT Mohamed  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Rhumatologie  
Ophthalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo  
Faciale  
Ophthalmologie  
Cardiologie  
Ophthalmologie  
Ophthalmologie  
Biophysique

Pr. EL HAMZAOUI Sakina  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. KARIM Abdelouahed  
Pr. KENDOOUSSI Mohamed\*  
Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*  
Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam  
Pr. ZERAIDI Najia

Microbiologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Radiologie  
Ophtalmologie  
Cardiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Rhumatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique

### **Décembre 2005**

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

### **Avril 2006**

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*

Rhumatologie

Pr. AKJOUJ Said\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. ESSAMRI Wafaa  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
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\*

Radiologie  
Hématologie  
O.R.L  
Biophysique  
Chirurgie - Pédiatrique  
Chirurgie Cardio - Vasculaire  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Gastro-entérologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Urologie  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie - Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie

Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Psychiatrie  
Endocrinologie  
Psychiatrie  
Pneumo – Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo – Phtisiologie

### **Octobre 2007**

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AMMAR Haddou  
Pr. AOUI Sarra  
Pr. BAITE Abdelouahed\*  
Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
Pr. BENZIANE Hamid\*  
Pr. BOUTIMZIANE Nourdine  
Pr. CHARKAOUI Naoual\*  
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader\*  
Pr. ELABSI Mohamed  
Pr. EL BEKKALI Youssef\*  
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
Pr. EL OMARI Fatima  
Pr. GANA Rachid  
Pr. GHARIB Noureddine  
Pr. HADADI Khalid\*  
Pr. ICHOU Mohamed\*  
Pr. ISMAILI Nadia  
Pr. KEBDANI Tayeb  
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*  
Pr. LOUZI Lhoussain\*  
Pr. MADANI Naoufel  
Pr. MAHI Mohamed\*  
Pr. MARC Karima  
Pr. MASRAR Azlarab  
Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid  
Pr. MOUTAJ Redouane \*  
Pr. MRABET Mustapha\*  
publique et hygiène  
Pr. MRANI Saad\*  
Pr. OUZZIF Ez zohra\*

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie  
Pharmacie galénique  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Anesthésie réanimation  
Psychiatrie  
Neuro chirurgie  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Radiothérapie  
Oncologie médicale  
Dermatologie  
Radiothérapie  
Anesthésie réanimation  
Microbiologie  
Réanimation médicale  
Radiologie  
Pneumo phtisiologie  
Hématologique  
Anesthésier réanimation  
Parasitologie  
Médecine préventive santé  
  
Virologie  
Biochimie-chimie

Pr. RABHI Monsef\*  
Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
Pr. SEFFAR Myriame  
Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
Pr. SIFAT Hassan\*  
Pr. TABERKANET Mustafa\*  
périphérique  
Pr. TACHFOUTI Samira  
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
Pr. TANANE Mansour\*  
Pr. TLIGUI Houssain  
Pr. TOUATI Zakia

Médecine interne  
Radiologie  
Microbiologie  
Microbiologie  
Radiothérapie  
Chirurgie vasculaire  
  
Ophtalmologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie orthopédie  
Parasitologie  
Cardiologie

### **Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
Pr TAHIRI My El Hassan\*

Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale

### **PROFESSEURS AGREGES :** **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. AGDR Aomar\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AKHADDAR Ali\*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. AZENDOUR Hicham\*  
Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
Pr. BJIJOU Younes  
Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
Pr. BOUI Mohammed\*  
Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
périphérique  
Pr. DOGHMI Kamal\*  
Pr. EL MALKI Hadj Omar  
Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
Pr. ENNIBI Khalid\*

Médecine interne  
Pédiatre  
Chirurgie Générale  
Neurologie  
Neuro-chirurgie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Rhumatologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Anatomie  
Biochimie-chimie  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Traumatologie orthopédique  
Hématologie biologique  
Chirurgie vasculaire  
  
Hématologie clinique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Médecine interne

Pr. FATHI Khalid  
Pr. HASSIKOU Hasna \*  
Pr. KABBAJ Nawal  
Pr. KABIRI Meryem  
Pr. KADI Said \*  
Pr. KARBOUBI Lamyia  
Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
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 \*  
Pr. ZOUHAIR Said\*

Gynécologie obstétrique  
Rhumatologie  
Gastro-entérologie  
Pédiatrie  
Traumatologie orthopédique  
Pédiatrie  
Microbiologie  
Chimie Thérapeutique  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Pédiatrie  
Hématologie biologique  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Cardiologie  
Pneumo-ptisiologie  
Microbiologie

### **Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
Pr. BELAGUID Abdelaziz  
Pr. BOUAITY Brahim\*  
Pr. CHADLI Mariama\*  
Pr. CHEMSI Mohamed\*  
Pr. CHERRADI Ghizlan  
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. LEZREK Mounir  
Pr. MALIH Mohamed\*  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. NAZIH Mouna\*  
Pr. RAISSOUNI Zakaria\*  
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation  
Médecine interne  
Physiologie  
ORL  
Microbiologie  
Médecine aéronautique  
Cardiologie  
Biochimie chimie  
Radiologie  
Chirurgie pédiatrique  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Urologie  
Gastro entérologie  
Anatomie pathologique  
Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie générale  
Hématologie  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie pathologique

**Mai 2012**

Pr. Abdelouahed AMRANI  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. Ahmed JAHID  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Drissi\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. Mouna EL ALAOUI MHAMDI  
Pr. Mounir ER-RAJI  
  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

Chirurgie Pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Anatomie Pathologique  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
Anesthésie Réanimation  
Médecine Interne  
Pneumophtisiologie  
Psychiatrie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Pédiatrique  
  
Cardiologie

## **ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES**

### *PROFESSEURS*

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie
Chimique	
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootecnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*\*Enseignants Militaires*

# *Dédicaces*



*Je dédie ce travail*

*A ALLAH, le tout puissant, par la volonté de qui s'accomplit  
toute chose*

*Au Prophète Mohammed Paix et Salut sur Lui*

*A ma chère mère,*

*Je te dois tant ! Pour tous tes efforts et sacrifices, pour ton amour et tes prières  
qui m'accompagnent tout le temps, merci infiniment !*

*A mon cher père,*

*Je lui rends hommage par ce travail et le remercie pour l'éducation dont il m'a  
apportée. Puisse Allah lui faire Miséricorde et l'accueille dans son Paradis  
éternel*

*A ma chère sœur Sahiba,*

*Que son âme repose en paix et qu'Allah lui fasse Miséricorde*

*A mon frère Mahaman Mounirou et à ma sœur Amira,*

*Que ce travail soit pour vous une source d'inspiration, je vous exhorte à mieux  
faire*

*Au Dr HALADOU M. Manirou,*

*Merci pour tout le soutien dont tu as fait preuve, qu'Allah te récompense*

*A ma tante Baraka MOUSSA,*

*Pour ton attention et tes efforts, trouve en ce travail ma profonde gratitude*

*Au Dr MATY ELHADJ Maman,*

*La vie a fait que je suive tes traces en tant que pharmacien !*

*Aux familles Kalla LAWAN, Rabiou ABDOU et Issa KANTIA*

*A tous mes oncles, tantes et cousins*

*A mes chers amis et collègues,*

*Dr ALFA BOUKARI Achraf, Sampson Maxwell, KéréguéThéodor, Dr Maurice, Abdou Bassira, Mamoudou Rachida, Alice Ouédraogo, VUKÉ Alida, Olivia Chorine, Adam GOITA, Dr Jean UWINGABIYE. En souvenir d'agréables moments passés ensemble et en témoignage de notre amitié.*

*A tous mes amis marocains*

*Aux personnes avec qui j'ai eu le plaisir de travailler,*

*Au plateau technique central de recherche de la faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat, Bouchra, Hanane et Imane. C'est l'occasion ici de témoigner ma gratitude et vous remercier pour toute l'aide et l'accueil dont vous avez fait preuve.*

*A tous les professeurs auprès de qui j'ai eu l'honneur  
d'apprendre*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation  
de ce travail*

*A mon pays le NIGER*

*Au Maroc, pour la formation et l'expérience dont il m'a apporté.*

# *Remerciements*



*J'adresse mes sincères remerciements*

*A Notre Maître et Président de thèse  
Monsieur Yahia CHERRAH  
Professeur de pharmacologie*

*Nous sommes très sensibles au privilège et à l'honneur que vous nous  
faites en acceptant de présider notre jury de thèse.*

*Nous vous prions, cher Maître, de trouver en ce travail le témoignage de  
notre reconnaissance et de notre profond respect.*

*A Notre Maître et Rapporteur de thèse  
Monsieur Abdelaziz BOUKLOUZE  
Professeur des applications pharmaceutiques*

*Vous avez accepté de nous encadrer dans cette thèse avec confiance et sympathie, ce fut un grand plaisir pour nous de travailler sous votre direction.*

*Malgré vos multiples sollicitations, vous restez toujours au service des étudiants, votre disponibilité suscite l'estime et l'admiration.*

*Votre modestie et votre compétence font de votre personne un noble maître, vous nous avez toujours réservé un bon accueil.*

*C'est une occasion ici de vous témoigner nos sincères remerciements et vous assurer tout notre respect.*

*A Notre Maître et Juge de thèse  
Monsieur M'hammed ANSAR  
Professeur de chimie organique et pharmacie chimique*

*Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger notre travail.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos  
sincères remerciements.*

*A Notre Maître et Juge de thèse  
Monsieur M.Y. El Abbès FAOUZI  
Professeur de pharmacologie*

*Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger notre travail.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos  
sincères remerciements.*

*A notre invité*  
*Monsieur EL MRABET Mohammedine*  
*Professeur de chimie à l'Institut Agronomique et Vétérinaire*  
*Hassan II de Rabat*

*Vous avez été d'une grande générosité en nous fournissant les*  
*adsorbants avec lesquels on a travaillé.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos*  
*sincères remerciements.*

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	1
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	5
<b>CHAPITRE 1 : La spectrophotométrie UV-visible</b> .....	6
I. Introduction .....	7
II. Rappels sur La spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible .....	7
II.1 Principe .....	7
II.2 Le spectre d'absorption UV-visible .....	9
II.3 Analyse quantitative en UV-vis : loi de Beer-Lambert .....	10
II.4 Appareillage .....	11
III. Principales applications de la spectrophotométrie UV-vis .....	12
III.1 Dans le contrôle qualité de médicament .....	12
III.2 Dans les analyses biologiques et toxicologiques .....	15
III.3 Autres domaines d'application .....	15
<b>CHAPITRE 2 : La validation d'une procédure analytique</b> .....	16
I. Introduction .....	17
II. Les critères de validation d'une procédure analytique .....	18
II.1 La spécificité (ICH) .....	19
II.2 La linéarité (ICH, PE) .....	19
II.3 Intervalle de mesure (ICH, PE) .....	20
II.4 Exactitude – Justesse (ICH, PE, SFSTP) .....	20
II.5 Fidélité (ICH, SFSTP) .....	21
II.5.1 La répétabilité .....	21

II.5.2	La fidélité intermédiaire .....	21
II.6	Limite de détection (ICH) .....	22
II.7	Limite de quantification (ICH) .....	22
II.8	La sensibilité (SFSTP, ISO) .....	23
II.9	La robustesse (ICH, SFSTP) .....	23
<b>CHAPITRE 3 : L'adsorption .....</b>		<b>24</b>
I.	Introduction .....	25
II.	Mécanismes de l'adsorption .....	25
II.1	L'adsorption physique .....	26
II.2	L'adsorption chimique .....	26
III.	Caractéristiques physico-chimiques d'un adsorbant .....	27
IV.	Les différents types d'adsorbants .....	28
IV.1	Les charbons actifs .....	28
IV.2	Les zéolithes .....	28
IV.3	Les gels de silice .....	29
IV.4	Les alumines activées .....	29
IV.5	Les argiles activées .....	29
IV.6	Autres types d'adsorbants .....	29
<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>		<b>30</b>
I.	INTRODUCTION .....	31
II.	MATERIEL ET METHODES .....	34
II.1	Matériel .....	34
II.1.1	Appareillage et instruments .....	34
II.1.2	Matières premières .....	36
II.2	Méthodes .....	39
II.2.1	Optimisation de la méthode de dosage .....	39
II.2.1.1	Effet de la concentration de l'acide nitrique .....	39

II.2.1.2	Effet du temps de réaction .....	40
II.2.1.3	Effet de la lumière.....	40
II.2.1.4	Effet de la température .....	40
II.2.1.5	Etude de différents types de solvant d'extraction.....	41
II.2.2	Validation de la méthode analytique .....	41
II.2.2.1	Préparation des standards de calibration .....	42
II.2.2.2	Préparation des standards de validation.....	43
II.2.3	Analyse quantitative .....	44
II.3	Essais de décontamination par les adsorbants naturels.....	44
III.	RESULTATS ET DISCUSSION .....	46
III.1	Optimisation de la méthode de dosage.....	46
III.1.1	Effet de la concentration d'acide nitrique .....	46
III.1.2	Effet du temps de réaction .....	46
III.1.3	Effet de la lumière .....	47
III.1.4	Effet de la température .....	47
III.1.5	Etude de différents types de solvant d'extraction.....	48
III.2	Validation de la méthode de dosage.....	50
III.2.1	Sélectivité (spécificité).....	50
III.2.2	Linéarité .....	50
III.2.2.1	Test d'homogénéité des variances .....	51
III.2.2.2	Test de l'existence d'une pente significative.....	52
III.2.3	Exactitude.....	52
III.2.4	Fidélité (ou précision) .....	53
III.2.5	Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ).....	54
III.2.6	Application de la méthode dans le contrôle qualité.....	54

III.3 Application de la méthode dans des essais de décontamination par les adsorbants.....	56
---	----

<b>Conclusion générale</b> .....	61
----------------------------------	----

**ANNEXES**

**REFERENCES**

**RESUMES**

## LISTE DES FIGURES, TABLEAUX ET ABRÉVIATIONS

### *LISTE DES FIGURES*

<b>Figure</b>	<b>Titres</b>	<b>Page</b>
1	Domaines du rayonnement électromagnétique	8
2	Schéma général d'un spectrophotomètre	11
3	Sensibilité d'une méthode analytique appréciée par la pente de la courbe d'étalonnage	23
4	Structure chimique du diclofénac sodique	31
5	Photo du spectrophotomètre utilisé	35
6	Charbon actif en grains	37
7	Schiste activé en poudre	37
8	Kaolinite en poudre	38
9	Montmorillonite en poudre	38
10	Représentation des niveaux d'absorbance en fonction de la concentration d'acide nitrique	46
11	Effet de la température sur la réaction	47
12	Spectres d'absorption des solutions après extraction	48
13	Etude des pouvoirs d'extraction des solvants	49
14	Courbe d'étalonnage	51
15	Cinétique d'adsorption du diclofénac sur le charbon actif	57
16	Cinétique d'adsorption du diclofénac sur le schiste activé	58
17	Cinétique d'adsorption du diclofénac sur la kaolinite	59

## *LISTE DES TABLEAUX*

<b>Tableau</b>	<b>Titres</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Quelques applications de la spectrophotométrie UV-vis dans les analyses pharmaceutiques	14
<b>II</b>	Critères de validation en fonction des procédures analytiques	18
<b>III</b>	Renseignements sur les spécialités pharmaceutiques	36
<b>IV</b>	Préparation des solutions diluées d'acide nitrique	39
<b>V</b>	Préparation de la gamme d'étalonnage	43
<b>VI</b>	Résumé des données d'exactitude	53
<b>VII</b>	Résultats de la détermination du diclofénac sodique dans les spécialités pharmaceutiques	54
<b>VIII</b>	Résultats des pertes à la dessiccation	56
<b>IX</b>	Données de la décontamination par le charbon actif	57
<b>X</b>	Données de la décontamination par le schiste activé	58
<b>XI</b>	Données de la décontamination par la kaolinite	59
<b>XII</b>	Données de la décontamination par la montmorillonite	60

## *LISTE DES ABRÉVIATIONS*

AINS	: Anti-inflammatoire non stéroïdien
BPF	: Bonnes Pratiques de Fabrication
CPG	: Chromatographie en phase gazeuse
FDA	: Food and Drug Administration
HPLC	: High Performance Liquid Chromatographie
ICH	: International Conference on Harmonisation
IR	: Infra-rouge
ISO	: International Standard Organization
PA	: Principe actif
PE	: Pharmacopée européenne
Réf.	: Référence
SFSTP	: Société française des sciences et techniques pharmaceutiques
Spectro UV-vis	: Spectrophotométrie ultraviolet-visible
UV-vis	: Ultraviolet-visible

# **INTRODUCTION GENERALE**

---

Le concept de la validation des méthodes analytiques est bien connu et accepté dans toutes les industries pharmaceutiques, chimiques, biopharmaceutiques ou agroalimentaires qui développent des procédures analytiques ou qui utilisent des méthodes analytiques pour le contrôle qualité de leurs produits. En effet, la validation est devenue une étape cruciale dans le cycle de vie d'une méthode analytique. C'est ainsi qu'après l'étape de l'optimisation, il devient essentiel et obligatoire de démontrer au moyen de la validation qu'une méthode optimisée correspond à l'usage attendu en fournissant, par ailleurs, des résultats fiables. Pour l'utilisation en routine, il est impératif que ces techniques soient aussi rapides et simples à utiliser, tout en conservant une qualité maximale.

L'objectif d'une méthode d'analyse est de pouvoir quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues que le laboratoire aura à déterminer. L'introduction de la validation de ces méthodes permet la détermination avec un maximum de précision des quantités inconnues. Par ailleurs, il est sans doute que les laboratoires cherchent à minimiser les coûts d'analyse, et trouvent en la spectrophotométrie une méthode ayant de nombreuses applications dans l'analyse des composés notamment en industrie pharmaceutique.

La spectrophotométrie se trouve être la méthode la plus commune aux laboratoires et qui peut être efficacement utilisée là où les appareils les plus modernes et chers notamment la CPG et l'HPLC sont indisponibles. Elle s'avère donc être une méthode particulièrement économique. D'autre part, il est rapporté dans plusieurs littératures que cette méthode a l'avantage d'être simple, rapide, sensible, sélective, exacte et reproductible. Cependant, il faut bien noter que cette méthode apporte peu d'informations structurales d'où elle se voit limiter dans l'analyse qualitative.

Notre objectif premier dans cette étude est donc le développement par optimisation et validation, d'une méthode spectrophotométrique pour le dosage du diclofénac sodique aux moyens des différentes recommandations et des méthodes statistiques.

Le second objectif est l'application de cette méthode pour suivre le taux du diclofénac sodique dans des solutions préparées, après une éventuelle décontamination par des adsorbants naturels. En effet, le diclofénac sodique est l'un des médicaments le plus utilisé dans ses indications avec un peu plus de 40 spécialités pharmaceutiques en Europe contenant le diclofénac comme principe actif [1], et une dizaine de spécialités commercialisées au Maroc.

Suite à son importante utilisation, le diclofénac est considéré comme l'un des résidus pharmaceutiques les plus détectés dans les rejets d'eau. Il a été détecté dans les eaux de traitement des plantes à des concentrations de l'ordre du  $\mu\text{g/L}$ , mais aussi dans des échantillons d'eau destinée à la consommation [2]. De ce fait, il peut exister des risques pour l'environnement associés à l'utilisation, le stockage et le rejet de ce médicament [1] que ce soit par les industries pharmaceutiques ou par les patients.

Selon les directives 2001/83/CE et 2001/82/CE du parlement européen, une évaluation du risque environnemental est nécessaire pour toutes les demandes d'autorisation de mise sur le marché pour les médicaments à usage humain et vétérinaire [1].

Les adsorbants naturels que nous avons utilisés dans notre travail à savoir le charbon actif, le schiste activé, la kaolinite et la montmorillonite pourraient constituer un moyen de décontamination de certains rejets liquides contaminés par le diclofénac sodique.

Les adsorbants sont en effet connus pour leur utilisation dans l'élimination des micropolluants organiques de l'eau, surtout le charbon actif qui se voit largement utilisé.

En résumé, notre étude s'articule en deux parties : une partie bibliographique comportant trois chapitres dont le premier résume les principes de l'analyse quantitative par UV-vis ainsi que son instrumentation et sa large application, le deuxième chapitre parle de la validation des procédures analytiques avec toutes les définitions afférentes, et le troisième relate quelques notions sur l'adsorption. Ensuite, la deuxième partie porte sur l'expérimentation de notre travail qui commence par une introduction, ensuite sont traités les matériels et méthodes, puis les résultats et discussions, et enfin la conclusion.

Nous retrouverons en annexes, l'ensemble des informations nécessaires à une bonne compréhension de ce travail.

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE 1

---

## ***La spectrophotométrie d'absorption UV-visible***

## **I. Introduction**

La spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultraviolet et le visible est une méthode spectrale d'analyse chimique basée sur les principes d'absorption des radiations lumineuses. C'est sans doute la méthode la plus commune des laboratoires et la technique la plus courante de contrôle et d'analyse de composés chimiques. C'est une méthode quantitative et qualitative présentant plusieurs applications, néanmoins l'analyse quantitative reste la plus utilisée.

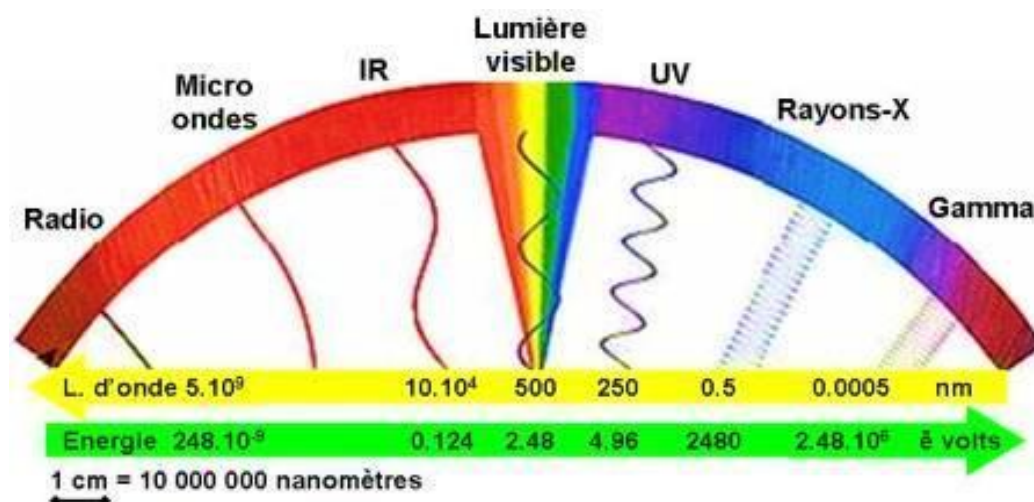
Grâce au perfectionnement des spectrophotomètres UV-visible, cette méthode a conservé son importance et gagné d'autres applications notamment l'analyse multicomposants.

## **II. Rappels sur La spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible**

### **II.1 Principe**

En spectroscopie UV-visible, une molécule est susceptible d'absorber une radiation lumineuse d'énergie correspondante au domaine UV-visible (200 à 800 nm) faisant passer la molécule d'un état fondamental à un état excité d'énergie supérieure. Les transitions électroniques mises en jeu se font après formation des orbitales moléculaires de différents types :  $\sigma$  et  $\sigma^*$  (combinaison linéaire des orbitales atomiques s ou pz),  $\pi$  et  $\pi^*$  (combinaison linéaire des orbitales atomiques px et py) et n (paire d'électrons non liants localisés sur des hétéroatomes)[3].

L'absorption d'une intensité incidente de radiation par la molécule est proportionnelle à la concentration de l'échantillon qui est déterminée par la loi d'absorption de Beer-Lambert.



*Figure 1 : Domaines du rayonnement électromagnétique en fonction de la longueur d'onde et de l'énergie*

En absorption moléculaire dans l'UV-vis, seules les transitions électroniques sont importantes, sachant que la modification de l'énergie électronique entraîne des perturbations de l'énergie de rotation et de l'énergie de vibration [4].

Une transition électronique est ainsi analysée comme un changement de population entre une orbitale moléculaire fondamentale occupée (orbitales moléculaires liante et non liante remplies) et une orbitale moléculaire excitée vacante (orbitales moléculaires anti-liantes). Lorsqu'elle a lieu, la matière absorbe un photon (UV-vis) dont l'énergie correspond à la différence d'énergie entre ces niveaux fondamental et excité.

## II.2 Le spectre d'absorption UV-visible

Le spectre UV-vis d'une molécule est un spectre de bande qui établit l'absorbance **A** ou la transmittance **T** en fonction de la longueur d'onde  **$\lambda$** . Cette bande présente généralement un pic d'absorption au niveau de la longueur d'onde maximale  **$\lambda_{max}$**  (longueur d'onde de la radiation qui provoque la transition électronique) et au niveau de l'intensité liée au coefficient d'extinction molaire  **$\epsilon_{max}$** .

L'absorption est due à certains groupements de la molécule appelés chromophores qui sont des groupements fonctionnels de la molécule (cétone, amines, dérivés nitrés, etc).

Cependant, deux principaux facteurs sont responsables de la modification des bandes d'absorption d'une molécule : le pH et le solvant.

✚ **Effet du pH** : la modification du pH de la solution peut entraîner une modification de la structure de la molécule, surtout si elle possède des propriétés acido-basiques.

✚ **Effet du solvant (solvatochromie)** : chaque solvant a une polarité qui lui est propre. Comme on sait que toute transition électronique modifie la répartition de la charge dans le composé en solution, il est évident que la position et l'intensité des bandes d'absorption vont varier quelque peu avec la nature du solvant employé [4]. Les interactions solvant-soluté sont suffisamment nettes pour reconnaître à quel type de transition électronique on est en présence. C'est ainsi qu'on distingue deux effets opposés :

✓ **Effet hypsochrome « Blue shift »** : le chromophore responsable de la transition électronique est plus polaire dans son état fondamental que dans son état excité.

Un solvant polaire stabilisera donc la forme à l'état fondamental par solvatation, ce qui nécessite plus d'énergie pour provoquer la transition électronique concernée. Il en résulte une diminution de  $\lambda_{\max}$  par augmentation de la polarité du solvant. Cet effet est rencontré dans les transitions  $n \rightarrow \pi^*$  et  $n \rightarrow \sigma^*$ .

✓ **Effet bathochrome « Red shift »** : pour les composés peu polaires, l'effet de solvant est faible. Cependant si le moment dipolaire du chromophore augmente au cours de la transition, l'état final sera plus solvato. Un solvant polaire va ainsi stabiliser la forme excitée, ce qui favorise la transition donc peu d'énergie est nécessaire. Il en résulte un déplacement de  $\lambda_{\max}$  vers les grandes longueurs d'onde. Cet effet est observé dans les transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  des hydrocarbures éthyléniques dont la double liaison de départ est peu polaire.

### II.3 Analyse quantitative en UV-vis : loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution. Cette loi traduit l'absorbance du composé en fonction de la concentration.

$$A = \epsilon l C$$

*A : absorbance, accessible au moyen d'un spectrophotomètre*

*$\epsilon$  : coefficient d'absorption molaire ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ) à la longueur d'onde  $\lambda$  à laquelle la mesure est effectuée, il dépend de la température et du solvant.*

*l : l'épaisseur de la cuve contenant la solution traversée par le faisceau lumineux (cm)*

*C : concentration molaire de la solution contenue dans la cuve ( $mol \cdot L^{-1}$ ).*

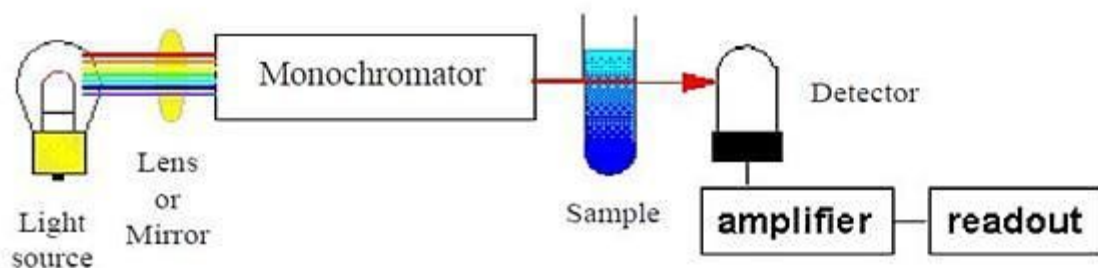
Cette loi est valide uniquement lorsque certaines conditions sont réunies :

- ✓ la lumière incidente doit être monochromatique ;
- ✓ les concentrations des solutions doivent être faibles afin d'annuler l'indice de réfraction ;
- ✓ la solution ne doit être ni fluorescente (afin d'éliminer les erreurs par excès) ni hétérogène (pour éviter les pertes de lumière par diffusion) ;
- ✓ le soluté ne doit pas donner lieu à des transformations photochimiques ;
- ✓ le soluté ne doit pas donner des associations variables avec le solvant.

## **II.4 Appareillage**

Les spectres d'absorption sont enregistrés à l'aide de spectrophotomètres dont les plus utilisés actuellement sont à optique double faisceau et possèdent une capacité de sélection automatique de la longueur d'onde.

Un spectrophotomètre est conçu autour de trois modules : la source lumineuse, le système dispersif et le système de détection.



*Figure 2 : Schéma général d'un spectrophotomètre*

Les spectromètres à optique double faisceau sont caractérisés par un faisceau issu du monochromateur séparé en deux, dont l'un traverse la cuve de l'échantillon et l'autre la cuve de référence. Deux miroirs tournants en forme de secteurs, synchronisés avec le mouvement pas à pas du réseau, permettent au détecteur de comparer exactement pour la même longueur d'onde les intensités transmises par l'une ou l'autre des deux voies. L'appareil peut être équipé d'un seul détecteur ou de deux détecteurs à la fois.

L'avantage de cet appareil est la possibilité de mesures différentielles entre l'échantillon et le blanc analytique. Il n'est donc plus besoin de refaire le zéro de l'appareil à chaque changement de longueur d'onde, d'où il convient pour l'enregistrement de spectre.

### **III. Principales applications de la spectrophotométrie UV-vis**

De nombreux articles ont été publiés dans la littérature scientifique décrivant l'utilisation de la spectrophotométrie UV-vis dans la détermination de composés tant dans le contrôle qualité en industrie pharmaceutique que dans l'analyse des échantillons biologiques et botaniques. La plupart de ces publications étaient originaires de l'Asie (Inde), de l'Afrique (Maghreb) et d'Europe.

#### **III.1 Dans le contrôle qualité de médicament**

*Ayman A. Gouda et al.*[5], ont rapporté dans une revue montrant l'existence d'un grand nombre de publications sur les méthodes spectrophotométriques UV-vis et couvrant la période allant de 1985 à 2010, les déterminations des différentes substances actives anti-inflammatoires non stéroïdiennes (AINS). Pendant cette période, 145 méthodes spectrophotométriques UV-vis et dérivées ont été développées.

Ces méthodes sont généralement basées sur des réactions de complexation de métal, d'oxydo-réduction et de formation de pair d'ion. Les AINS constituent en effet un groupe très important et très diversifié dans leur composition chimique et dans la thérapeutique de la douleur. Leur grande utilisation fait appel à des méthodes de contrôle qualité très adaptées dont l'UV-vis.

Cette méthode a été également utilisée dans la détermination de plusieurs autres principes actifs dans des formulations pharmaceutiques à savoir la méthyldopa [6], le sumatriptan et ses produits de dégradation sous diverses conditions de stress [7], l'amiodarone [8], la cefixime par complexation avec le palladium(II) [9], etc.

On note aussi l'utilisation de cette méthode dans l'analyse multicomposants, où une méthode spectrophotométrique sensible a été développée par *Nagaralli et al* [10] pour la détermination de l'amoxicilline, la ciprofloxacine et le piroxicam à l'état pur et dans des formulations pharmaceutiques. La méthode a été optimisée et validée pour l'analyse en routine de ces composés.

De récentes applications de la spectrophotométrie dérivée d'absorption UV-vis ont été rapportées par *Bosch Ojeda et Sanchez Rojas* [11] pour la résolution des pics qui se chevauchent dans le spectre d'absorption. Cette méthode dérivée a été largement utilisée et a permis de résoudre les chevauchements des spectres de composés afin d'accroître leur résolution. Elle a été appliquée dans l'analyse des composés inorganiques, des formulations pharmaceutiques, des études de stabilité, d'analyse biologique des composés, dans le contrôle des aliments, dans le contrôle environnemental et autre [11].

**Tableau I :** Quelques applications de la spectro d'absorption UV-vis dans les analyses pharmaceutiques

<b>Principe actif</b>	<b>Classe pharmacologique</b>	<b><math>\lambda_{\max}</math> et méthode</b>	<b>Linéarité (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	<b>Réf.</b>
Lévoﬂoxacine	Antibiotique	292 nm	1,0 – 12,0	[12]
Amiodarone	Bétabloquant	400 nm avec le bleu de bromothymol à pH=2,32	2 – 55	[8]
Lévocétirizine	Antihistaminique H1	420 nm avec le 2,4-dinitriphénol	1,2 – 24	[13]
Erythromycine Triméthoprime	Antibiotiques	482 nm et 240nm (Résolution spectrale par spectro dérivée première)	15 – 90 7,2 – 36	[14]
Pyriméthamine	Antipaludéen	483 nm avec le 1,2-naphtoquinone-4-sulfonate à 60°C	12 – 40	[15]
Lamivudine/ Stavudine	Antirétroviraux	Méthode des moindres carrés pour la résolution des pics	2 – 12 3 - 15	[16]
Méthyl dopa	Antiparkinsonien	400 nm avec le 2,6-dichloroquinone-4-chlorimide	4 – 20	[6]
Naphazoline Chlorphéniramine	$\alpha$ -1 adrénergique Antihistaminique H1	302 nm avec la spectro dérivée 276,4 nm par dérivée seconde	5 – 25 5 – 40	[17]
Célécoxib	AINS (Coxibs)	253,1 nm	8 – 22	[18]
Acéclofénac	AINS (acides arylalcanoïques)	642,6nm avec le Folin-Ciocalteu	80 – 160	[19]
Acide méfénamique	AINS (acides aryl anthraniliques)	520 nm avec le p-acidechloranilique	10 – 300	[20]
Amoxicilline Ciprofloxacine Piroxicam	Antibiotique Antibiotique AINS (oxicam)	510 nm (analyse multicomposants)	0,04 – 7,2	[10]

### **III.2 Dans les analyses biologiques et toxicologiques**

La spectrophotométrie d'absorption UV-vis est une technique très utilisée dans le domaine de la santé notamment en biochimie clinique et en toxicologie médicamenteuse. Plusieurs méthodes ont été rapportées notamment une étude cinétique par spectrophotométrie pour la détermination du métabolite principal de l'héroïne dans des échantillons biologiques (sérum et urine) [21].

Une méthode spectrophotométrique simple, exacte et sensible a été proposée pour la détermination de l'amantadine (antiparkinsonien) dans des échantillons biologiques. Cette méthode a été statistiquement validée et proposée pour la détermination de l'amantadine dans les formulations pharmaceutiques [22].

Plusieurs autres applications de la spectrophotométrie dans la détermination du cobalt dans l'environnement [23], des traces de mercure dans les eaux environnementales [24], du zirconium dans l'environnement [25] ont été apportées.

### **III.3 Autres domaines d'application**

Dans le domaine phytochimique, plusieurs méthodes spectrophotométriques ont également été développées, notamment pour déterminer l'acide rosmarinique dans des extraits de plantes [26], quantifier une herbicide glyphosate dans les milieux aqueux avec une application aux isothermes d'adsorption sur les sols et la goethite [27] et quantifier une diterpène (kahweol) spécifique au café arabique à 620 nm [28].

Dans le domaine agroalimentaire, cette technique est largement utilisée où on note le développement d'une nouvelle méthode pour l'analyse du « jaune soleil » (colorant) dans les échantillons alimentaires basée sur l'extraction au point de trouble avant la détermination spectrophotométrique [29].

## CHAPITRE 2

---

### *La validation d'une procédure analytique*

## **I. Introduction**

La validation est définie selon les bonnes pratiques de fabrication comme l'établissement de la preuve, en conformité avec les principes des BPF, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés [30].

Selon la F.D.A : « valider une méthode consiste à démontrer, avec un degré de confiance élevé et sous une forme documentée, que la méthode permet d'obtenir un résultat analytique qui atteint les spécifications définies à l'avance. » [31]

Le but de la validation d'une procédure analytique est de démontrer qu'elle correspond à l'usage pour lequel elle est prévue [32]. Elle permettrait ainsi de donner aux laboratoires et aux autorités compétentes des garanties suffisantes que chacune de ses mesures qui seront réalisées ultérieurement en routine avec ladite méthode, seront suffisamment proches de la « vraie valeur ».

Ce concept de validation a donné une grande importance au développement de nouvelles méthodes analytiques dont la plupart se voient aujourd'hui normalisées. Les critères de validation et leurs méthodologies sont largement définis et discutés dans la littérature scientifique [33-34]. Certains de ces critères peuvent être présents dans une réglementation, et absents dans une autre[33]. Les guidelines ICH Q2(R1) regroupent la plupart de ces critères.

## II. Les critères de validation d'une procédure analytique

Toute méthode d'analyse est classiquement validée à l'aide d'une série de critères qui sont appliqués en fonction de la rubrique à valider (tableau I).

**Tableau II :** Critères de validation en fonction des différentes procédures analytiques

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

## **II.1 La spécificité(ICH)**

Selon l'ICH, la spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à permettre l'identification et le dosage univoque de la substance à analyser, en présence des composés susceptibles de l'accompagner. Ces composés contiennent typiquement les impuretés, les produits de dégradation, la matrice, etc.

Selon la FDA, c'est la capacité d'une méthode analytique à différencier et quantifier l'analyte en présence d'autres composés dans l'échantillon.

Il convient d'évaluer la spécificité des tests d'identité, de dosage des impuretés et de la teneur. Le choix des moyens utilisés pour démontrer la spécificité dépend de l'objectif de la méthode d'analyse.

La spécificité des méthodes spectrophotométriques de dosage dépend du chromophore responsable de l'absorption à la longueur d'onde spécifique  $\lambda_{\max}$ . Il convient généralement afin de rendre la méthode spécifique, d'effectuer des réactions chimiques avec un ou plusieurs réactifs sur le composé à analyser. Selon la réaction, la longueur d'onde  $\lambda_{\max}$  est déplacée vers une autre absorption maximale généralement différente de celles des autres composés en solution.

## **II.2 La linéarité (ICH, PE)**

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance présente dans l'échantillon.

En règle générale, la linéarité d'une procédure est établie en appliquant la méthode testée sur des séries d'échantillons préparées à partir d'une solution mère.

Il est recommandé donc d'utiliser au minimum 5 niveaux différents de concentration et d'effectuer au minimum 3 séries indépendantes de chacune des 5 concentrations (sur le PA seul et sur la forme pharmaceutique reconstituée), à raison d'une série par jour.

Pour évaluer la linéarité, il convient d'établir un graphique de réponses obtenues en fonction de la concentration, et de procéder à un examen visuel de ce graphique. Si la relation est linéaire, il faudrait alors analyser les résultats par des méthodes statistiques appropriées. Le coefficient de corrélation, l'ordonnée à l'origine et la pente de la droite de régression sont autant d'expressions mathématiques permettant d'évaluer la linéarité des relations obtenues expérimentalement.

### **II.3 Intervalle de mesure (ICH, PE)**

L'intervalle de mesure d'une procédure analytique est l'intervalle entre les niveaux supérieur et inférieur (inclus) de concentration (quantité) de la substance à analyser dans l'échantillon sur lequel il a été démontré que la procédure possède une fidélité, une exactitude et une linéarité appropriées.

### **II.4 Exactitude – Justesse (ICH, PE, SFSTP)**

Selon l'ICH, l'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur acceptée comme conventionnellement vraie, ou comme valeur de référence, et la valeur trouvée.

En ce qui concerne la SFSTP, elle parle de justesse qui exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée (par exemple standard international, standard d'une pharmacopée).

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

## **II.5 Fidélité (ICH, SFSTP)**

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion, coefficient de variation) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène (résultats d'essais indépendants) dans des conditions prescrites.

Elle peut être évaluée à trois niveaux, à savoir la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la reproductibilité. La fidélité fournit une indication sur les erreurs aléatoires (dues au manipulateur, matériel, réactifs préparés, etc.).

### **II.5.1 La répétabilité**

C'est la fidélité obtenue dans les conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essais identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps. Elle est également appelée essai intra-laboratoire.

Elle doit être évaluée soit :

- ✓ sur la base d'au moins 9 déterminations couvrant l'intervalle de mesure spécifié (exemple : 3 concentrations avec 3 répétitions pour chacune des concentrations) ;
- ✓ sur la base d'au moins 6 déterminations à 100% de la concentration d'essai avec 3 répétitions par jour.

### **II.5.2 La fidélité intermédiaire**

C'est l'expression de la variabilité intra-laboratoire où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essais identiques dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents pendant un intervalle de temps donné.

L'ampleur des études à effectuer pour évaluer la fidélité intermédiaire dépend des circonstances dans lesquelles il est prévu d'appliquer la procédure analytique. Le demandeur doit établir l'effet de différents événements aléatoires sur la fidélité de la procédure. Les facteurs de variation types à étudier comprennent les variations d'un jour à un autre, d'un analyste à un autre et d'un équipement à un autre. Son protocole d'étude est le même que celui appliqué pour la répétabilité en effectuant deux autres séries d'essais qui intègrent les variations.

La reproductibilité n'est envisagée que dans le cas d'étude inter-laboratoires.

## **II.6 Limite de détection (ICH)**

La limite de détection (LOD) d'une procédure analytique est la plus petite quantité de la substance considérée qui peut être détectée dans un échantillon, sans forcément pouvoir être quantifiée de façon exacte.

Elle peut être exprimée par la relation suivante :

$$\mathbf{LOD = 3.3 \sigma/S}$$

Où  $\sigma$  = écart-type de la réponse ;

S = pente de la courbe d'étalonnage.

## **II.7 Limite de quantification (ICH)**

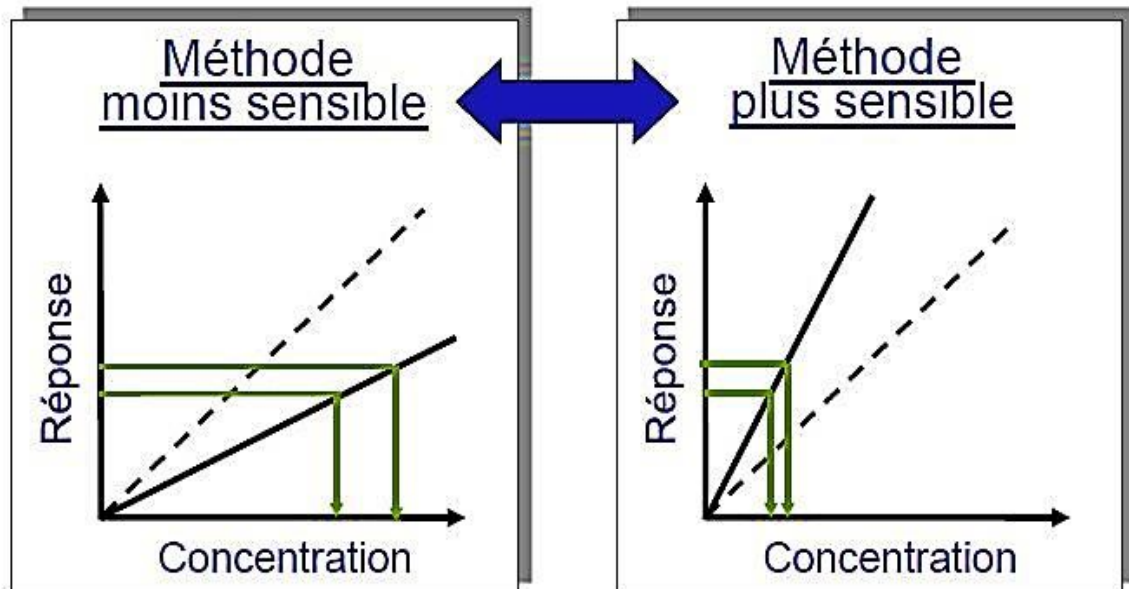
La limite de quantification (LOQ) est la plus petite quantité de la substance considérée qui peut être quantifiée dans un échantillon avec une exactitude et une fidélité appropriées.

La limite de quantification est un paramètre intervenant dans les analyses quantitatives pour les composés présents à faible concentration dans les matrices. Elle peut être déterminée de la même façon que la limite de détection, à la différence du multiplicateur, par la relation suivante :

$$\mathbf{LOQ = 10 \sigma/S}$$

## II.8 La sensibilité (SFSTP, ISO)

La sensibilité d'une procédure d'analyse peut être définie comme étant le rapport de la variation de la réponse de la méthode d'analyse à la variation de la quantité d'analyte.



*Figure 3 : Sensibilité d'une méthode analytique appréciée par la pente de la courbe d'étalonnage*

## II.9 La robustesse (ICH, SFSTP)

La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles, délibérées, de facteurs associés à la procédure.

Elle donne une indication de la fiabilité de la procédure dans les conditions normales d'application. Cette méthode fait appel aux plans d'expériences.

## CHAPITRE 3

---

# *L'adsorption*

## **I. Introduction**

L'adsorption est un phénomène de surface par lequel des molécules de gaz ou de liquide se fixent sur les surfaces solides des adsorbants selon divers processus physiques ou chimiques plus ou moins intenses. Ce phénomène a son origine dans les forces d'attraction intermoléculaires, de nature et d'intensité variées, qui sont responsables de la cohésion des phases condensées. Les molécules ainsi adsorbées constituent l'adsorbat, et les solides qui les retiennent les adsorbants.

L'utilisation des solides pour extraire certaines substances des solutions a été largement étudiée au cours de ces dernières années. En effet, plusieurs travaux ont été menés sur l'adsorption, en particulier l'adsorption des pesticides dans les sols agricoles [35]. Aujourd'hui, ce phénomène est devenu un outil utile pour la purification et la séparation de toute substance indésirable.

## **II. Mécanismes de l'adsorption**

L'adsorption se produit principalement en trois étapes :

- ✓ diffusion extra granulaire de la matière (transfert du soluté à travers le film liquide vers la surface des grains de l'adsorbant) ;
- ✓ transfert intra granulaire de la matière dans la structure poreuse des adsorbants ;
- ✓ réaction d'adsorption au contact des sites actifs (une fois adsorbée, la molécule est considérée comme immobile).

A partir de cette étape de réaction, on définit deux types de processus d'adsorption : l'adsorption physique ou physisorption et l'adsorption chimique ou chimisorption.

## II.1 L'adsorption physique

C'est le type d'adsorption le plus courant. L'adsorption physique se produit sans modification de la structure moléculaire et est parfaitement réversible (les molécules adsorbées peuvent être désorbées en diminuant la pression ou en augmentant la température). Ce processus physique est rapide et fait intervenir des forces intermoléculaires relativement faibles, qui se divisent en deux catégories :

- ✚ Les interactions non spécifiques qui existent quelles que soient les molécules adsorbables et le solide (forces de Van Der Waals et forces de polarisation) ;
- ✚ Les interactions spécifiques dues à une répartition particulière des charges de l'adsorbant et des espèces adsorbables (forces électrostatiques).

## II.2 L'adsorption chimique

Le processus résulte d'une réaction chimique avec formation de liaisons chimiques entre les molécules d'adsorbant et la surface d'adsorbant. L'énergie de liaison est beaucoup plus forte que dans le cas de la physisorption et le processus est beaucoup moins réversible, voire irréversible. Ce phénomène est spécifique car la formation de liaisons chimiques a lieu entre une molécule adsorbée et une position particulière de l'adsorbant (site chimiquement actif). Comme une seule couche au plus d'adsorbant peut se lier chimiquement à la surface de l'adsorbant, la chimisorption est nécessairement restreinte à une monocouche.

### III. Caractéristiques physico-chimiques d'un adsorbant

Un adsorbant se caractérise par des propriétés physiques et chimiques intrinsèques. L'adsorption est un phénomène de surface, d'où l'intérêt des structures poreuses. L'essentiel des propriétés physiques d'un matériau adsorbant se rapporte donc à la description de sa porosité qui est l'ensemble des interstices (espaces) pouvant contenir des fluides.

Les propriétés physiques d'un adsorbant peuvent être résumées ainsi [36] :

- ✓ la forme (poudres, granulés...)
- ✓ les dimensions
- ✓ la surface spécifique ( $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$ ) qui désigne la surface réelle (surface totale) par unité de masse ;
- ✓ la distribution des diamètres des pores
- ✓ le volume poreux
- ✓ les densités (apparente, réelle...)
- ✓ la tenue mécanique et tenue en température, etc.

Les tailles de pores sont réparties en trois groupes : les micropores de diamètre inférieur à 2 nm, les mésopores de diamètre compris entre 2 et 50 nm, et les macropores de diamètre supérieur à 50 nm. Les micropores constituent les sites de l'adsorption et déterminent pratiquement à eux seuls la capacité d'adsorption.

Quant aux propriétés chimiques, elles concernent :

- ✓ les affinités polaires (hydrophile/hydrophobie)
- ✓ teneur en eau
- ✓ teneur en composés solubles
- ✓ taux de cendres
- ✓ désorbabilité
- ✓ propriétés catalytiques, etc.

## **IV. Les différents types d'adsorbants**

Seuls les adsorbants ayant une surface spécifique suffisante peuvent avoir des intérêts pratiques. Les adsorbants industriels ont généralement des surfaces spécifiques au-delà de  $100 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ . Les adsorbants industriels les plus courants sont les charbons actifs, les zéolithes (alumino-silicates), les gels de silice, les alumines et les argiles activées.

### **IV.1 Les charbons actifs**

Ce sont des adsorbants carbonés préparés par pyrolyse d'une matière contenant du carbone, charbon ou matériel végétal, pour conduire à un charbon de bois qui est ensuite oxydé par la vapeur d'eau dans des conditions contrôlées pour créer une structure microporeuse. Les charbons actifs sont des adsorbants organophiles (hydrophobes) amorphes dont la surface spécifique se situe entre  $500$  et  $1500 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ . Ils se présentent selon leurs applications, soit en poudre, soit en grains, soit sous forme extrudée.

Leur importante porosité, leur vaste domaine d'application et leur coût font des charbons actifs les adsorbants les plus répandus. Ils sont utilisés dans la plupart des procédés industriels pour purifier les produits. Ils peuvent être destinés à l'adsorption des gaz, comme ceux utilisés dans les cartouches de masque à gaz.

### **IV.2 Les zéolithes**

Ce sont des alumino-silicates cristallisés microporeux de formule générale  $(\text{AlO}_2\text{M}, n\text{SiO}_2)$  où M représente le plus souvent un métal alcalin ou alcalino-terreux, et  $n \geq 1$ . Leur surface spécifique ne dépasse guère  $900 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ , ce qui limite leur capacité d'adsorption, mais présentent une bonne sélectivité. Les zéolithes peuvent être hydrophiles ou hydrophobes et sont moins sensibles à la chaleur que les charbons actifs.

### **IV.3 Les gels de silice**

Il s'agit d'adsorbants synthétiques très hydrophiles dont on peut contrôler la structure des pores et dont la surface spécifique varie entre 300 et 800 m<sup>2</sup>/g. les gels de silice sont préparés à partir de Si(OH)<sub>4</sub> en phase aqueuse.

### **IV.4 Les alumines activées**

Les alumines activées sont des adsorbants amorphes, moyennement polaires et hydrophiles. Leur surface spécifique est de l'ordre de 300 m<sup>2</sup>/g. les alumines activées sont obtenues par thermolyse flash du trihydroxyde d'aluminium Al(OH)<sub>3</sub>. Elles sont utilisées notamment comme déshydratant en phase gazeuse.

### **IV.5 Les argiles activées**

Ce sont des alumino-silicates de formule brute proche de celle des zéolithes mais de structure cristalline différente. Ce sont des produits naturels, utilisés surtout pour le séchage.

### **IV.6 Autres types d'adsorbants**

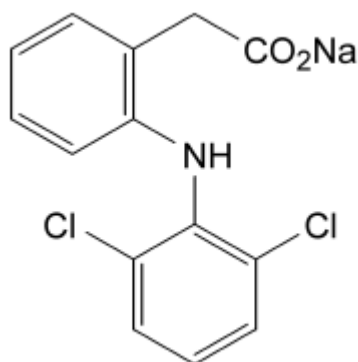
On trouve les phosphates naturels (phosphates de calcium, hydroxyapatite phosphocalcique), la bauxite, la rutile, les résines macroporeuses, etc.

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## I. INTRODUCTION

Dans cette partie expérimentale, notre objectif est d'optimiser et valider une méthode spectrophotométrique pour le dosage du diclofénac sodique, ensuite de l'appliquer pour le suivi du taux de diclofénac après décontamination des solutions par des adsorbants naturels. Notre travail a été réalisé au sein du plateau technique central de recherche de la faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.

Le diclofénac sodique, [2-[(2,6-Dichlorophényl)amino]phényl]acétate de sodium [37] est une substance active anti-inflammatoire non stéroïdienne appartenant à la classe chimique des acides aryl-carboxyliques. Il est utilisé pour ses propriétés antalgiques (non morphiniques) et anti-inflammatoires dans le traitement symptomatique de certaines douleurs notamment les infections douloureuses, les douleurs dentaires et les arthroses. Il est principalement utilisé par voie orale mais existe également sous d'autres formes (injectable, suppositoire, etc.).



*Figure 4 : Structure chimique du diclofénac sodique [37].*

Le diclofénac sodique fait partie des principaux dérivés du diclofénac simple, qui sont : le diclofénac diéthylamine, le diclofénac potassique et le diclofénac épolamine. Ces dérivés sont en effet tous sous forme de sels d'acide (acide faible) présentant ainsi un caractère acide.

Deux mécanismes réactionnels permettent de synthétiser le diclofénac selon Bushmann, en 2002 [1]. Le premier à partir du N-phényl-2,6-dichloroaniline, développé par Moser *et al.* (1990) ; et le deuxième à partir de l'acidechloro-2-benzoïque.

La pharmacopée européenne préconise le titrage par potentiométrie avec l'acide perchlorique 0,1 M pour le dosage du diclofénac sodique en milieu acide acétique anhydre [37].

Selon la littérature scientifique, plusieurs techniques analytiques ont été développées pour le dosage du diclofénac sodique dans les formulations pharmaceutiques à savoir une méthode chromatographique sur couche mince à haute performance [38], une méthode potentiométrique par électrode de membrane [39], plusieurs méthodes chromatographiques et spectrofluorométriques revues par G. Pandey [40]. Un grand nombre de méthodes spectrophotométriques ont également été proposées et synthétisées dans des revues [5, 40].

La plupart de ces méthodes sont coûteuses, moins rapides ou plus difficiles à réaliser par rapport aux méthodes spectrophotométriques. La méthode qu'on s'est proposé à développer est en effet simple, rapide et consomme moins de réactifs [41].

Le diclofénac sodique est un produit largement utilisé faisant objet de nombreuses automédications. Cette importante utilisation a également augmenté son taux dans les milieux aquatiques, faisant du diclofénac l'une des substances médicamenteuses fortement présentes dans les bassins d'eau en Europe [42].

L'adsorption est un processus qui est de plus en plus utilisé pour lutter contre la pollution de l'environnement. Ce processus a vu plusieurs applications notamment dans l'élimination des pesticides dans les eaux environnementales.

C'est ainsi qu'une étude a été réalisée pour déterminer l'effet du cuivre, de l'acide humique et du pH sur l'adsorption de l'imazéthapyr un herbicide, sur la montmorillonite (un adsorbant) et de déterminer les isothermes d'adsorption [43].

Une autre étude a été également réalisée sur l'adsorption du carbofuran et du phénamiphos, deux nématocides appartenant aux groupes des carbamates et des organophosphorés respectivement, et qui a montré une légère disparition de ces nématocides des sols marocains [35].

## **II. MATERIEL ET METHODES**

### **II.1 Matériel**

#### **II.1.1 Appareillage et instruments**

- ✓ On a utilisé un spectrophotomètre UV-vis SHIMADZU® UV-2450 qui est un spectrophotomètre à optique double faisceau muni de fentes variables (0,1 à 5 nm), de miroirs tournants et de détecteurs de types photomultiplicateurs. Cet appareil est caractérisé par une bande passante de 1,1 nm sur toute la gamme spectrale allant de 190,0 à 900,0 nm. Il possède des précisions de 0,1 nm sur la mesure de la longueur d'onde et 0,002 sur la mesure de l'absorbance. La lumière parasite UV est inférieure à 0,015 %. Le spectrophotomètre est connecté à un ordinateur exploitant le logiciel UV Probe 2.32. C'est un logiciel multifonctionnel présentant plusieurs modes à savoir le module mesure cinétique de l'absorbance, module spectral et photométrique, des fonctions informatiques complètes permettant d'obtenir les spectres dérivés, les équations des droites, etc.



*Figure 5 : Photo du spectrophotomètre utilisé prise au laboratoire*

- ✓ des cuves en quartz d'épaisseur 10 mm sont employées ;
- ✓ une balance électronique de précision, de marque PRECISA® XB 120A avec une portée maximale de 120g ( $e=0,001g$ ) et une portée minimale de 0,01g ( $d=0,0001g$ ) ;
- ✓ instruments de mesure volumétrique y compris toute la verrerie : micropipettes et pipettes, béchers, fioles, éprouvettes, tubes, ampoule à décanter, etc. ;
- ✓ un bain ultrason de marque BRANSON® 1200 ;
- ✓ un agitateur de tube de marque VELP SCIENTIFICA® ;
- ✓ un bain-marie thermostaté GLF-1083
- ✓ un agitateur magnétique VELP SCIENTIFICA® ;
- ✓ une centrifugeuse ROTOFIX® 32A ;
- ✓ une étuve MEMMERT®.

### II.1.2 Matières premières

On s'est procuré de la matière première du diclofénac sodique d'une pureté de 99,9 % (MODERN PHARMA). Elle se présente sous l'aspect d'une poudre blanchâtre, assez soluble dans l'eau.

Comme réactif, on a utilisé l'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) à 65% (% v/v) de normalité 14 N et de densité  $d_{20/4}$  à 1,40 issu de la société SOLVAPUR® (Réf. 520, lot 020206).

Trois solvants ont été utilisés à savoir :

- ✓ l'eau distillée ;
- ✓ l'acétate d'éthyle de pureté 99,9 % avec une densité ( $d_{20/4}$ ) de 0,901 ;
- ✓ le dichloroéthane de pureté 99,8 %, densité ( $d_{20/4}$ ) = 1,250 – 1,260.

Deux spécialités pharmaceutiques de différentes formes contenant comme principe actif le diclofénac sodique, sont issues d'une pharmacie d'officine locale.

**Tableau III** : Renseignements sur les spécialités pharmaceutiques utilisées

Nom de la spécialité	Forme	Dosage	Numéro de lot	Date de péremption
XENID®	Injectable	75mg/3ml	1226	11-2014
DICLOBERL®	Comprimé gastro-résistant	50 mg	006	06-2014

Comme adsorbants naturels, on a utilisé :

- ✓ Le charbon actif en grains après activation avec un diamètre de pores à 3,15 mm.



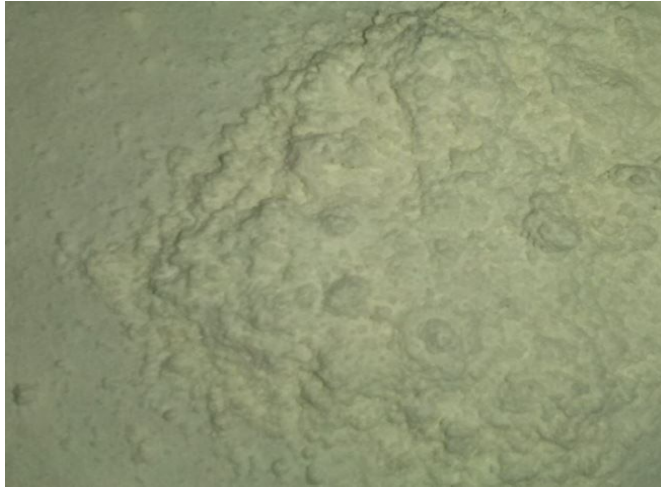
*Figure 6 : Charbon actif en grains\**

- ✓ Le schiste activé en poudre, avec des particules de diamètre inférieur à 0,28 mm.



*Figure 7 : Schiste activé en poudre\**

- ✓ La kaolinite (46%  $\text{SiO}_2$ , 39%  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) qui est un alumino-silicate, se présentant sous forme de poudre blanche.



*Figure 8 : Kaolinite sous forme de poudre\**

- ✓ La montmorillonite (k10), une argile sous forme de poudre.



*Figure 9 : Montmorillonite sous forme de poudre\**

---

*\*Photos prises au laboratoire*

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Optimisation de la méthode de dosage

Préparation de la solution mère aqueuse de diclofénac sodique à 0,1 mg/ml:

On a pesé exactement 10 mg de diclofénac sodique pur et transférer dans une fiole de 100 ml. La fiole a été complétée avec de l'eau distillée et placée dans un bain ultrason pendant 2 minutes. Les différentes solutions mères préparées ont été conservées au réfrigérateur pendant 5 jours au maximum.

Préparation des solutions diluées d'acide nitrique :

Cinq (5) concentrations d'acide nitrique ont été préparées à partir de la solution mère d'acide nitrique à 14 M.

**Tableau IV : Préparation de solutions diluées d'acide nitrique**

<b>Concentrations d'HNO<sub>3</sub> préparées (mol.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>9,1</b>	<b>10,5</b>	<b>14</b>
Volume initial prélevé	4	5	7,8	7,5	10
Volume d'eau ajouté	10	5	4,2	2,5	0
Volume finale préparé (ml)	14	10	12	10	10

#### II.2.1.1 Effet de la concentration de l'acide nitrique

On a fait réagir 1ml de chaque solution diluée d'acide nitrique (tableau IV) sur la solution mère aqueuse de diclofénac sodique à 0,1 mg/ml. Les solutions de réaction sont complétées à 10ml avec de l'eau distillée, ensuite balayées au spectrophotomètre entre 200 et 700 nm contre un blanc (eau distillée). Les absorbances sont lues à la longueur d'onde maximale.

### **II.2.1.2 Effet du temps de réaction**

On a étudié l'effet du temps de la réaction entre l'acide nitrique et le diclofénac en laissant 3 solutions préparées avec 1ml d'HNO<sub>3</sub> et 2ml de diclofénac à 0,1 mg/ml, complétée à 10 ml d'eau distillée pendant 1min, 3min et 10min. Les solutions sont ensuite passées au spectrophotomètre à 380 nm contre l'eau distillée comme témoin.

### **II.2.1.3 Effet de la lumière**

Nous avons étudié l'effet de la lumière sur la réaction entre l'acide nitrique et le diclofénac en plaçant des solutions préparées en présence de lumière (lumière ambiante) et à l'obscurité. Ces solutions sont préparées suivant le même protocole que précédemment (1ml d'HNO<sub>3</sub> + 2ml de diclofénac à 0,1mg/ml + 7ml d'eau distillée). L'effet de la lumière est apprécié après lecture des solutions au spectrophotomètre à 380 nm contre de l'eau distillée.

### **II.2.1.4 Effet de la température**

Trois solutions aqueuses de diclofénac à 0,15 mg/ml ont été placées dans différentes conditions de température aussitôt après l'ajout d'1ml d'HNO<sub>3</sub>. La première solution est laissée à température ambiante (environ 20°C), la seconde a été placée dans un bain-marie à 30°C, et la troisième dans un bain-marie à 40°C. Toutes les solutions sont laissées pendant un même temps de réaction dans leur condition de température. Ensuite, on a complété chaque solution à 10ml par ajout de 7ml d'eau distillée. L'absorbance des solutions est mesurée à 380 nm au spectrophotomètre contre de l'eau distillée comme blanc.

### II.2.1.5 Etude de différents types de solvant d'extraction

On a étudié deux types de solvants d'extraction, à savoir l'acétate d'éthyle et le dichloroéthane. Pour cela, on a travaillé sur deux solutions mères aqueuses de diclofénac sodique (0,1 mg/ml). On a effectué par la suite la réaction avec 1ml d'acide nitrique laissé en contact avec les solutions puis complétées avec de l'eau distillée. L'extraction a ensuite été réalisée par 10ml de solvant d'extraction à l'aide d'une ampoule à décanter. Les phases organiques recueillies sont passées au spectrophotomètre entre 200 et 600 nm pour déterminer  $\lambda_{\max}$  et lire les absorbances à ladite  $\lambda_{\max}$  contre le blanc (solvant d'extraction).

Le rendement de l'extraction est déterminé à partir des absorbances des phases aqueuses avant et après extraction.

$$\text{Pourcentage de recouvrement de l'extraction} = 1 - \frac{DO_{\text{après extraction}}}{DO_{\text{avant extraction}}} \times 100$$

### II.2.2 Validation de la méthode analytique

La démarche de la validation analytique qu'on a suivie est basée sur l'approche classique de la validation en se référant aux guidelines ICH Q2-R1 et au guide de validation analytique selon la SFSTP 92. D'après le protocole de la SFSTP, les études de linéarité, de l'exactitude et de la fidélité sont réalisées simultanément à partir du principe actif seul et de la forme pharmaceutique reconstituée afin de minimiser le nombre d'essais.

Pour cela, il faut d'abord préparer une gamme d'étalonnage sans matrice (standards de calibration) qui sert à calculer la fonction de réponse de la méthode. Cette gamme d'étalonnage porte sur 5 niveaux de concentration au minimum, représentant le domaine de concentration à étudier.

Pour valider la méthode, on prépare aussi une gamme de validation sur la forme pharmaceutique reconstituée (standards de validation) avec les mêmes niveaux de concentration que la gamme d'étalonnage. Comme il est impossible de reconstituer la forme pharmaceutique dans une matrice, la gamme de validation est préparée à partir de préparations pharmaceutiques commercialisées.

#### **II.2.2.1 Préparation des standards de calibration**

On a préparé une solution mère de diclofénac sodique à 1 mg/ml en pesant 100 mg de diclofénac sodique pur placé dans une fiole de 100 ml complétée avec de l'eau distillée. La dissolution a été accélérée au moyen d'un bain ultrason dans lequel la solution a été placée pendant 2 minutes.

A partir de cette solution mère ont été préparées cinq solutions diluées aux niveaux de concentration tels que mentionnés dans le tableau III. Ces solutions ont été utilisées pour la réaction avec l'acide nitrique comme suit :

- ✓ On a prélevé 2 ml de solution diluée à l'aide d'une pipette et placée dans un tube ;
- ✓ Ensuite on a ajouté 1 ml d'acide nitrique et laisser en contact pendant 3 à 5 minutes sans agiter ;
- ✓ On a complété la solution à 10 ml en ajoutant 7 ml d'eau distillée ;
- ✓ La solution a ensuite été transférée dans une ampoule à décanter avec 10 ml d'acétate d'éthyle ;
- ✓ On a ensuite agité 3 fois l'ampoule tout en dégazant entre chaque agitation, et laissé décanter ;
- ✓ Par la suite, on a extrait le composé par récupération de la phase supérieure (colorée en jaune) dans un tube.

Les solutions issues de l'extraction sont de concentrations différentes de celles des solutions préalablement diluées. Les nouvelles concentrations de ces solutions sont données dans le même tableau III. Trois répétitions (séries, n=3) de ces solutions issues de l'extraction ont été réalisées pour chaque niveau de concentration (k=5). Ces solutions ont été utilisées comme standards de calibration.

**Tableau V : Préparation de la gamme d'étalonnage**

Niveau de concentrations	1	2	3	4	5
Volume initial (µl)	250	500	750	1000	1500
Volume d'eau ajoutée (ml)	9,75	9,5	9,25	9	8,5
Concentration diluée (µg/ml)	25	50	75	100	150
Concentration finale après extraction (µg/ml)	5	10	15	20	30

### II.2.2.2 Préparation des standards de validation

On a utilisé deux formulations pharmaceutiques de différentes formes pour la préparation des standards de validation.

Une ampoule injectable de XENID<sup>R</sup> à 75 mg/3 ml a été placée dans une fiole de 50 ml complétée avec de l'eau distillée (*concentration initiale = 1,5 mg/ml*). On a prélevé deux fois 10 ml de cette solution pour préparer des solutions diluées de 100 et 150 µg/ml en complétant avec le volume d'eau adéquat. Ces solutions diluées sont ensuite soumises au même protocole que précédemment pour la réaction avec l'acide nitrique et l'extraction. Les solutions extraites sont de concentration finale de 20 et 30 µg/ml.

Deux comprimés de DICLOBERL<sup>R</sup> à 50 mg de diclofénac sodique ont été placés dans une fiole de 100 ml pendant plus d'une heure (*concentration initiale de 1 mg/ml*). La dissolution a été accélérée à l'aide d'un bain ultrason puis la solution a été filtrée au moyen d'un filtre à papier. On a ensuite prélevé 1 ml de cette solution à laquelle on a ajouté 9 ml d'eau distillée pour obtenir une solution diluée à 0,1 mg/ml. Cette solution est soumise au même protocole de réaction et d'extraction, pour enfin obtenir une concentration finale de 20 µg/ml.

### **II.2.3 Analyse quantitative**

Toutes les solutions obtenues après extraction sont aussitôt passées au spectrophotomètre en mode « photométrique » pour la lecture de l'absorbance à la longueur d'onde de 353 nm.

### **II.3 Essais de décontamination par les adsorbants naturels**

Avant de procéder à la décontamination, on a d'abord activé les produits par déshydratation à l'étuve à 100°C pendant 24 heures. Nous avons ainsi déterminé la perte à la dessiccation de chaque adsorbant en pesant le produit avant et après activation.

Une fois les produits activés, nous avons pesé pour chaque adsorbant plusieurs masses de 200 mg placées dans des tubes contenant 5 ml d'une solution aqueuse de diclofénac sodique à une concentration théorique de 150 µg/ml. Les adsorbants sont laissés en contact avec les solutions pendant un temps déterminé sous agitation. Trois répétitions sont réalisées pour chaque temps. Après ce temps, les tubes sont centrifugés pendant 5 minutes à 2500 tr/min. Le surnageant est ensuite récupéré, puis on a pipeté 2 ml de ce surnageant pour faire réagir avec 1 ml d'HNO<sub>3</sub> (*voir protocole plus haut*).

La durée de décontamination était de 5 min, 10 min (15 ou 20 min pour certains produits), 30 min, 45 min, 1h, 1h30 (ou 1h45), 2h, 2h30 (ou 2h45) et 3h.

Le taux de diclofénac a été déterminé en se servant de l'équation de la droite établie en mesurant l'absorbance des solutions à la longueur d'onde de 353 nm contre l'acétate d'éthyle comme blanc. La concentration initiale de la solution a été également déterminée à l'aide de l'équation. Les quantités de diclofénac sodique adsorbées par unité de masse d'adsorbant sont obtenues suivant la formule :

$$Q_{ads} = (C_i - C_e) \frac{V}{m} \times F \quad [44]$$

$Q_{ads}$  : quantité de diclofénac sodique adsorbée par masse d'adsorbant

$C_i$  : concentration initiale de la solution (théoriquement =  $30 \cdot 10^{-3}$  mg/ml)

$C_e$  : concentration déterminée au temps t (mg/ml)

V : volume de la solution décontaminée (5 ml)

m : masse d'adsorbant utilisée (0,2 g)

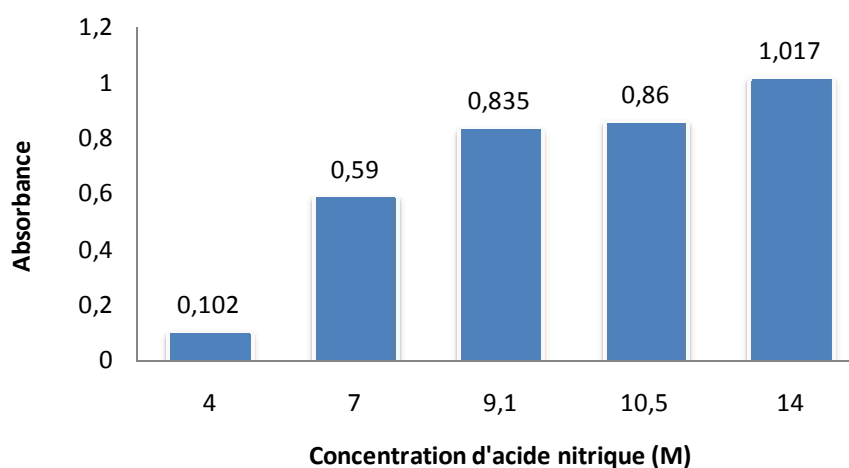
F : facteur de dilution = 5 (la solution décontaminée a subi une dilution au 1/5 avant son dosage, par prélèvement de 2 ml de cette solution pour préparer un volume final de 10 ml).

### III. RESULTATS ET DISCUSSION

#### III.1 Optimisation de la méthode de dosage

##### III.1.1 Effet de la concentration d'acide nitrique

Les résultats des absorbances obtenues après action de différentes concentrations d'acide nitrique sont présentés par la figure 10.



*Figure 10 : Représentation des niveaux d'absorbance en fonction de la concentration d'acide nitrique*

L'absorbance mesurée (1,017) avec l'acide nitrique 14M est plus intense que les autres, c'est pourquoi nous avons opté de travailler avec de l'acide nitrique concentré à 14M.

##### III.1.2 Effet du temps de réaction

L'absorbance mesurée après 3 minutes de réaction a été plus élevée que les deux autres à 10min et 1 min ( $0,9905 > 0,9877 > 0,863$  respectivement). D'autre part, l'intensité de la coloration de la solution obtenue après réaction reste inchangée après un temps de 5 minutes (couleur rouge virant au rouge foncée). C'est ainsi que nous avons fixé le temps de réaction entre l'acide nitrique et le diclofénac sodique de 3 à 5 minutes.

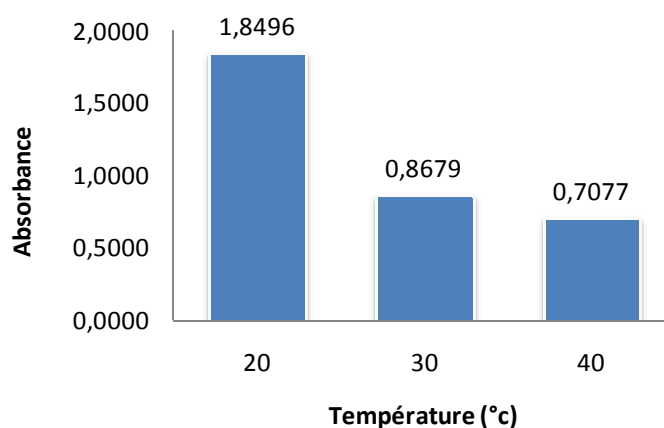
### III.1.3 Effet de la lumière

L'étude de l'effet de la lumière n'a montré aucune influence de celle-ci sur la réaction étudiée ; qu'elle soit effectuée en présence ou en absence de lumière, les absorbances obtenues ne sont pratiquement pas différentes.

### III.1.4 Effet de la température

Les absorbances obtenues aux températures de 20 et 30°C sont pratiquement les mêmes (1,208 et 1,172 respectivement), par contre on a obtenu une absorbance très faible à 40°C (0,175) (voir figure 11).

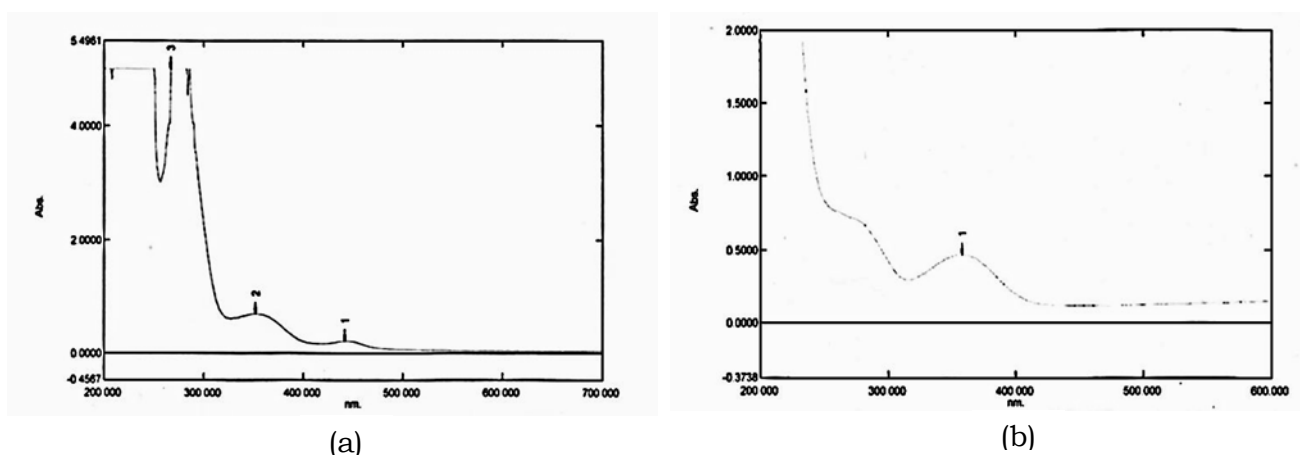
Il est donc évident qu'à 40°C, le composé absorbant à 380 nm est dégradé sous l'effet de la chaleur. Il y a donc une variation de l'absorbance aux hautes températures, c'est pourquoi nous avons continué notre travail à température ambiante (entre 20 et 30°C).



*Figure 11 : Effet de la température sur la réaction*

### III.1.5 Etude de différents types de solvant d'extraction

Les spectres des phases organiques obtenus entre 200 et 600 nm après extraction montrent deux pics d'absorption dont le plus important est à 353 nm avec l'acétate d'éthyle (figure 12a) et 360 nm avec le dichloroéthane (figure 12b). Le second pic moins important, est à 440 nm avec l'acétate d'éthyle et à 447 nm avec le dichloroéthane (invisible sur le spectre).

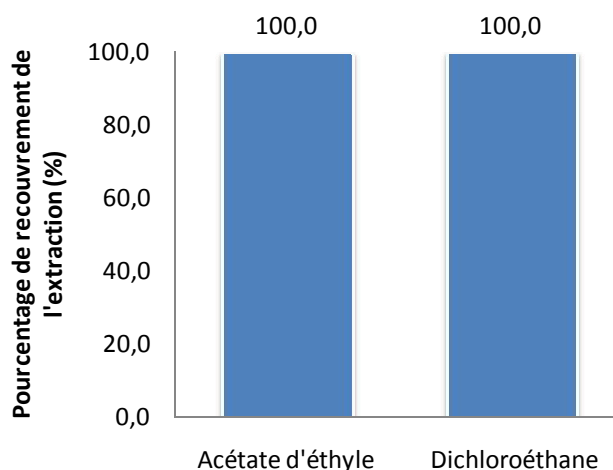


*Figure 12 : Spectres d'absorption des solutions après extraction : (a) avec l'acétate d'éthyle (b) avec le dichloroéthane*

Nous avons donc sélectionné le plus important pic pour chaque solvant et déterminer les absorbances correspondantes.

Les absorbances à 380 nm des phases aqueuses obtenues après extraction sont toutes nulles pour les deux solvants (*voir spectres en annexe*), ce qui donne un recouvrement d'extraction de 100 % dans les deux cas (figure 13).

Ces deux solvants peuvent donc être utilisés pour l'extraction du composé obtenu après réaction, néanmoins l'absorbance de la phase organique de l'acétate d'éthyle est légèrement plus grande (0,5173) que celle obtenue avec le dichloroéthane (0,4646). Egalement, pour des raisons de disponibilité, nous avons choisi l'acétate d'éthyle comme solvant d'extraction, avec une lecture des absorbances à la longueur d'onde de 353 nm.



*Figure 13 : Etude des pouvoirs d'extraction des solvants.*

Les spectres obtenus avant et après extraction (phase organique) sont différents. En effet, deux pics sont obtenus après extraction du composé. Ceci peut s'expliquer par une possible réaction entre le composé avec le solvant acétate d'éthyle ou avec une impureté contenu dans le solvant. C'est pourquoi nous avons uniquement suivi le plus important pic à  $\lambda_{\max}$  de 353 nm, qui est inférieur à celui d'avant extraction (380 nm) ; c'est-à-dire que la longueur d'onde a diminué après passage du composé dans un autre solvant (acétate d'éthyle). Il s'agit probablement d'une solvatochromie qui s'explique bien par un effet hypsochrome dû à l'acétate d'éthyle qui tend à stabiliser le chromophore dans son état fondamental. On peut en effet dire qu'on est en présence d'une transition  $n \rightarrow \pi^*$ .

### **CONCLUSION**

La méthode étudiée est basée sur une réaction du diclofénac sodique avec l'acide nitrique conduisant à un produit coloré en jaune extractible par l'acétate d'éthyle et présentant un maximum d'absorption à 353 nm. Les paramètres étudiés ont été définies dans leur condition optimale afin d'obtenir une meilleure détermination de la méthode.

## **III.2 Validation de la méthode de dosage**

### **III.2.1 Sélectivité (spécificité)**

La méthode qu'on a utilisée est basée sur la réaction entre le diclofénac sodique et l'acide nitrique, permettent de donner un composé coloré en jaune qui est extractible par l'acétate d'éthyle.

Cette réaction de l'acide nitrique est spécifique sur le diclofénac sodique, et le composé obtenu est spécifiquement extractible. Par ailleurs, il n'a pas été notifié des interférences entre les excipients et le principe actif constituant les spécialités pharmaceutiques. Les spectres d'absorption des phases organiques des spécialités présentes les mêmes pics d'absorption dont le plus important à 353 nm.

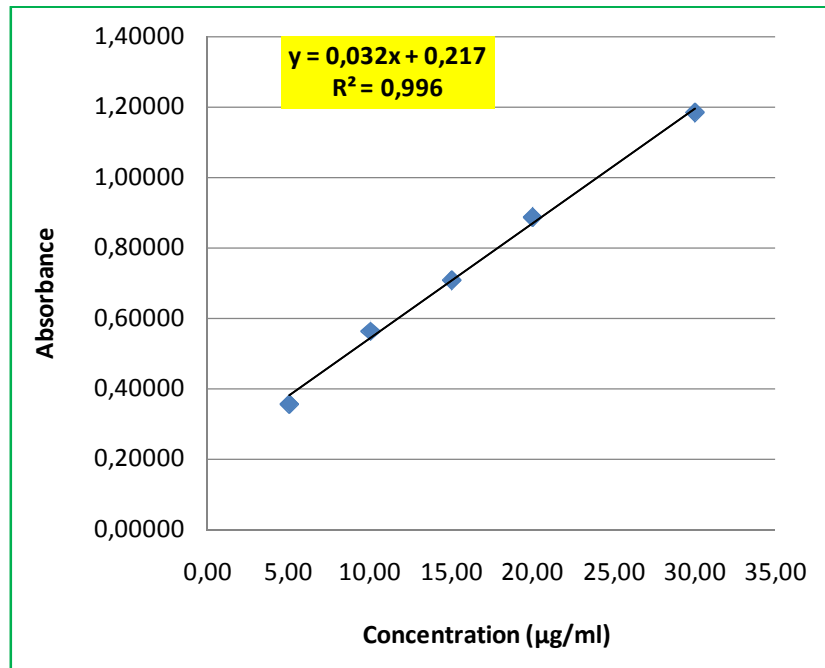
Cela permet de rendre compte de l'analyse univoque du diclofénac sodique même en présence de la matrice constituant la spécialité pharmaceutique, ce qui justifie la spécificité de la méthode.

### **III.2.2 Linéarité**

La linéarité a été évaluée à partir de 5 niveaux de concentration  $k=5$  (5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 30) avec 3 répétitions indépendantes pour chaque niveau ( $n=3$ ).

La droite de régression linéaire est obtenue par la méthode des moindres carrés sous la forme  $y = 0,0326x + 0,2178$ , où  $0,0326$  représente la pente de la droite, et  $0,2178$  l'ordonnée à l'origine (voir figure 14).

$y$  représente l'absorbance et  $x$  la concentration en  $\mu\text{g/ml}$ .



*Figure 14 : Courbe d'étalonnage*

Le coefficient de détermination  $R^2$  vaut 0,9964, ce qui signifie que la variabilité totale de l'absorbance est expliquée à 99,64 % par la variabilité de la concentration de l'échantillon en solution.

L'analyse de variance de la régression permet de vérifier l'existence d'une pente significative et l'existence d'une ordonnée à l'origine.

### **III.2.2.1 Test d'homogénéité des variances**

Le test de Cochran est appliqué aux variances des réponses  $y_{ij}$  pour vérifier l'homogénéité des variances constitutives de l'erreur expérimentale.

Si l'inégalité suivante est vérifiée :  $C_{calculé} < C_{tabulé}$ , l'ensemble des variances des différents groupes  $j$  peut être considéré comme homogène au risque  $\alpha$  (0,05).

On a ainsi déterminé :  $C_{\text{calculé}} = 0,5126$

$$C_{(0,05 ; 5 ; 2)} = 0,6838$$

$C_{\text{calculé}} < C_{\text{tabulé}} (0,05 ; 5 ; 2)$ , les variances sont donc homogènes au risque  $\alpha$  de 5%.

### III.2.2.2 Test de l'existence d'une pente significative

Ce test consiste à comparer les variations dues à la régression et aux erreurs (expérimentales et d'ajustement). La dépendance linéaire est testée par F de Fisher au seuil de confiance de 95%. Si le F calculé est supérieur au F de la table aux degrés de liberté (1, N-2), N étant le nombre total d'observations (15), le test est significatif.

$$F_{\text{calculé}} = 2587$$

$$F_{(0,05 ; 1 ; 13)} = 4,67$$

$F_{\text{calculé}} > F_{\text{tabulé}} (0,05 ; 1 ; 13)$ , nous avons l'existence d'une pente significative donc une dépendance linéaire au seuil de risque  $\alpha$  (5 %).

### III.2.3 Exactitude

Les paramètres sont calculés à partir des données de calibration. On a considéré les recouvrements entre les concentrations retrouvées grâce à la courbe d'étalonnage et les concentrations introduites. Une méthode est considérée exacte, lorsque la valeur 100 % est incluse dans l'intervalle de confiance.

**Tableau VI : Résumé des données d'exactitude**

<b>Concentration introduite (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	<b>Concentrations moyennes retrouvées (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>	<b>Recouvrement moyen (%)</b>
5	4,28	85,6
10	10,72	107,2
15	15,20	101,3
20	20,81	104
30	30,04	100,13

L'intervalle de confiance IC calculé est égal à  $99,68 \% \pm 4,78$ , qui peut être écrit sous la forme [94,9 – 104,46]. Le 100 % est compris dans l'intervalle de confiance avec 95 % de chance qu'elle y soit, la méthode est donc exacte.

#### **III.2.4 Fidélité (ou précision)**

La fidélité de la méthode de dosage est exprimée par le coefficient de variation (% CV) obtenu en effectuant le rapport entre l'écart-type et la moyenne des réponses.

La répétabilité (fidélité intra-jour) et la fidélité intermédiaire (fidélité inter-jour) ont été observées à trois concentrations (10 ; 15 et 20). La méthode sera considérée comme fidèle si les CV de la répétabilité sont inférieurs à 2%.

- ✓ Pour la répétabilité (n=3), le CV est de 0,6 %.
- ✓ Pour la fidélité intermédiaire (n=9), le CV est de 2,9 %.

Compte tenu des valeurs obtenues des CV, la répétabilité de la méthode est jugée satisfaisante, la méthode est donc fidèle.

### III.2.5 Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ)

Les valeurs des limites de détection et de quantification sont obtenues à partir des formules données par l'ICH Q2R1.

La limite de détection LOD = 1,012 $\mu$ g/ml.

La limite de quantification LOQ = 3,067 $\mu$ g/ml.

### III.2.6 Application de la méthode dans le contrôle qualité

Les résultats de détermination du diclofénac sodique dans les deux produits pharmaceutiques à savoir XENID<sup>®</sup> et DICLOBERL<sup>®</sup> présentent un pourcentage de recouvrement de 98,75 % et 102,65 % respectivement avec une concentration théorique de 20  $\mu$ g/ml. Les concentrations de ces deux formulations étaient donc conformes avec les limites autorisées par la pharmacopée européenne (100 %  $\pm$  5 %). On a pu donc conclure que la méthode est valide et adaptée pour une utilisation en routine dans le contrôle qualité du diclofénac sodique.

**Tableau VII : Résultats de la détermination du diclofénac sodique dans les spécialités pharmaceutiques**

Spécialités	C <sub>théorique</sub> ( $\mu$ g/ml)	C <sub>retrouvée</sub> ( $\mu$ g/ml)	Recouvrement (%)
XENID <sup>®</sup> inj	20	19,75	98,75
XENID <sup>®</sup> inj	30	30,84	102,8
DICLOBERL <sup>®</sup> cp	20	20,53	102,65

## **CONCLUSION**

Au vu des résultats obtenus qui sont satisfaisants, la méthode qu'on a étudiée a été validée et peut donc être utilisée pour la détermination du diclofénac sodique en routine. Cette méthode présente une linéarité obéissant à la loi de Beer-Lambert comprise entre 5,0 et 30  $\mu\text{g/ml}$  avec une limite de quantification à 3,067 $\mu\text{g/ml}$ .

### III.3 Application de la méthode dans des essais de décontamination par les adsorbants

Les adsorbant naturels ont été réactivés à l'étuve à 100°C pendant 24 heures afin d'augmenter leur pouvoir d'adsorption. La perte à la dessiccation de chaque adsorbant a ainsi été déterminée (Tableau VI).

**Tableau VIII : Résultats des pertes à la dessiccation**

<b>Adsorbant</b>	<b>Masse initiale (g)</b>	<b>Masse finale (g)</b>	<b>Perte à la dessiccation (%)</b>
Charbon actif	1,5095	1,4860	1,51
Schiste activé	1,5208	1,5023	1,21
Kaolinite	3,0108	2,9905	0,67
Montmorillonite	3,3207	3,3108	0,30

On a par la suite déterminé les concentrations de diclofénac sodique après un temps de décontamination en effectuant 3 répétitions pour chaque temps et en se servant de l'équation de la droite d'étalonnage préalablement établie. Le pouvoir adsorbant de chaque produit est apprécié en calculant la quantité de soluté adsorbé par gramme d'adsorbant.

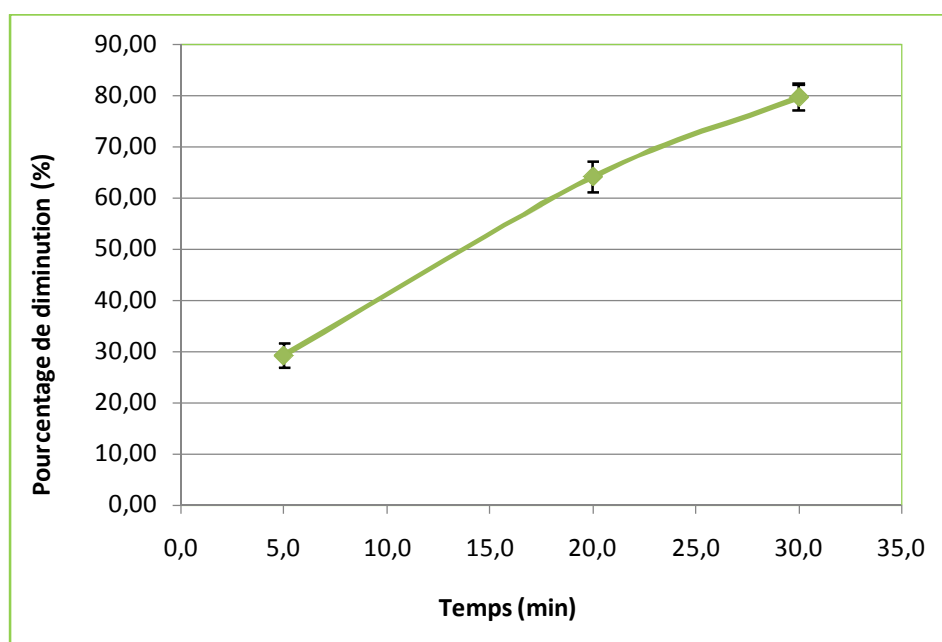
✓ Le charbon actif :

**Tableau IX : Données de la décontamination par le charbon actif**

Temps de décontamination	Concentration initiale $C_0$ ( $10^{-3}$ mg/ml)	Concentration moyenne à l'équilibre $C_E$ ( $10^{-3}$ mg/ml)	Pourcentage moyen de décontamination (%)	Qads (mg de soluté/g d'adsorbant)
5 min	31,4	22,20 $\pm$ 0,75	29,3 $\pm$	<b>1,15</b>
20 min		11,27 $\pm$ 0,98	64,1 $\pm$ 11,1	<b>2,52</b>
30 min		6,39 $\pm$ 0,82	79,6 $\pm$ 14,9	<b>3,13</b>
45 min		ND		
1 h		ND		
1 h 30		ND		
2 h		ND		
3 h		ND		

ND : Non détecté

Qads : Quantité adsorbée de diclofénac par gramme d'adsorbant



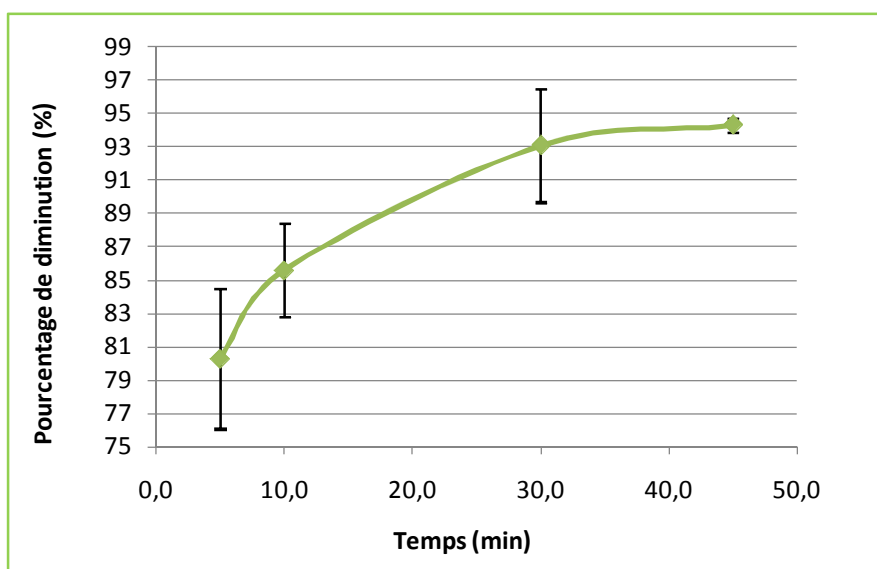
*Figure 15 : Cinétique d'adsorption du diclofénac sodique sur le charbon actif*

A partir de 30 minutes, on a eu une décontamination de 79,6 % comme le montre la figure 15. A partir de 45 minutes, la concentration du diclofénac n'a pas pu être détectée par la méthode car celle-ci est en dessous de la limite de quantification. A ce stade, le charbon a adsorbé au moins 90 % du diclofénac contenu dans la solution.

✓ Le schiste activé :

**Tableau X : Données de la décontamination par le schiste activé**

Temps de décontamination	Concentration initiale $C_0$ ( $10^{-3}$ mg/ml)	Concentration moyenne à l'équilibre $C_E$ ( $10^{-3}$ mg/ml)	Pourcentage moyen de décontamination	Qads (mg de soluté/g d'adsorbant)
5 min	30,8	$6,07 \pm 1,30$	$80,3 \pm 4,2$	<b>3,09</b>
10 min		$4,44 \pm 0,87$	$85,6 \pm 2,8$	<b>3,29</b>
30 min		$2,11 \pm 1,04$	$93,1 \pm 3,4$	<b>3,59</b>
45 min		$1,76 \pm 0,12$	$94,3 \pm 0,4$	<b>3,63</b>
1 h		ND		
1 h 45		ND		
2 h 30		ND		



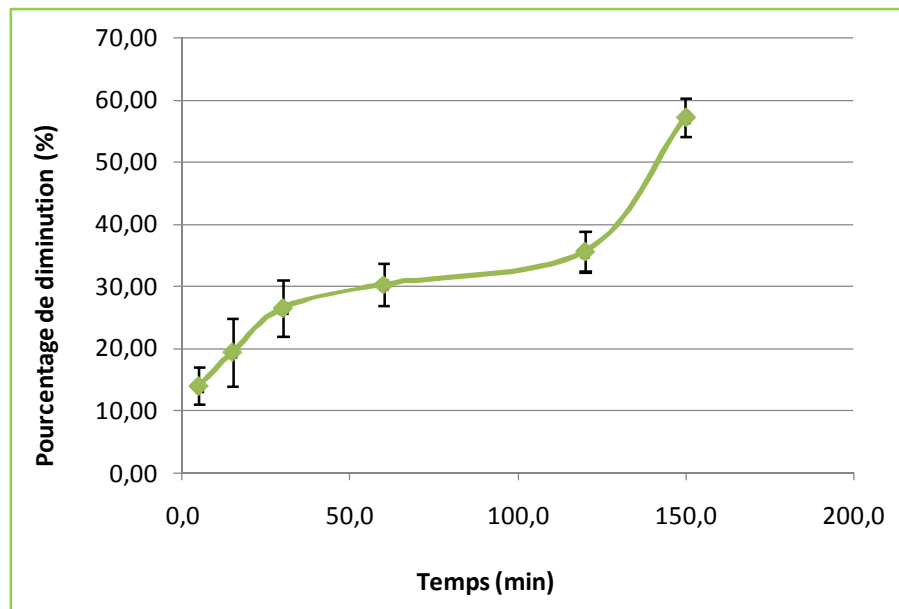
*Figure 16 : Cinétique d'adsorption du diclofénac sodique sur le schiste activé*

A partir de 5 minutes de contact, le schiste a décontaminé à 80 %, jusqu'à 45 minutes où la courbe tend à se stabiliser (figure 16). A ce stade, on peut dire qu'on a atteint les capacités maximales d'adsorption du schiste avec 3,63 mg de diclofénac par gramme de schiste, soit 94,3 %.

✓ La kaolinite :

**Tableau XI : Données de la décontamination par la kaolinite**

Temps de décontamination	Concentration initiale $C_0$ ( $10^{-3}$ mg/ml)	Concentration moyenne à l'équilibre $C_E$ ( $10^{-3}$ mg/ml)	Pourcentage moyen de décontamination	Qads (mg de soluté/g d'adsorbant)
5 min	30,8	$26,48 \pm 0,86$	$14,0 \pm 3,0$	<b>0,54</b>
15 min		$24,83 \pm 1,66$	$19,4 \pm 5,4$	<b>0,75</b>
30 min		$22,63 \pm 1,39$	$26,5 \pm 4,5$	<b>1,02</b>
1 h		$21,45 \pm 1,06$	$30,3 \pm 3,4$	<b>1,17</b>
2 h		$19,85 \pm 0,96$	$35,5 \pm 3,2$	<b>1,37</b>
2 h 30		$13,19 \pm 1,00$	$57,2 \pm 3,1$	<b>2,20</b>



*Figure 17 : Cinétique d'adsorption du diclofénac sodique sur la kaolinite*

On a pu suivre le taux du diclofénac après 2h30 de décontamination par la kaolinite, avec une concentration de 13,19  $\mu\text{g/ml}$  (tableau XI). L'allure de la courbe (figure 17) montre une continuité d'adsorption du diclofénac qui peut être décontaminé à plus de 60 % si on laissait un temps de contact plus long entre l'adsorbant et l'adsorbat.

✓ La montmorillonite :

**Tableau XII : Données de la décontamination par la montmorillonite**

Temps de décontamination	Concentration initiale $C_0$ ( $10^{-3}\text{mg/ml}$ )	Concentration moyenne à l'équilibre $C_E$ ( $10^{-3}\text{mg/ml}$ )	Pourcentage moyen de décontamination	Qads (mg de soluté/g d'adsorbant)
5 min	30,2	4,82 $\pm$ 1,85	84 $\pm$ 6,1	<b>3,17</b>
15 min		ND		
30 min		ND		

A partir de 5 minutes seulement, la montmorillonite a décontaminé plus de 80 % du diclofénac ; et au-delà, la concentration est devenue trop faible pour pouvoir être détectée par la méthode (tableau XII).

### **CONCLUSION :**

Le diclofénac sodique est un composé organique qui peut être adsorbé par plusieurs types d'adsorbants. Chacun de ces produits possède des caractéristiques qui lui confèrent un pouvoir adsorbant plus ou moins important, avec des allures des courbes de la cinétique de décontamination différentes. A comparer aux autres produits, la montmorillonite possède le meilleur pouvoir adsorbant avec plus de 80 % de décontamination à partir de 5 minutes, suivi ensuite du schiste activé, du charbon actif et enfin de la kaolinite qui prend plus de temps et n'atteint que 60 % de décontamination après 2h30.

# Conclusion générale

---

Ce travail avait pour objectif la validation d'une méthode spectrophotométrique pour le dosage du diclofénac sodique à l'état pur et dans deux formulations pharmaceutiques suivi de son application pour la détermination du diclofénac sodique après décontamination de solutions aqueuses de ce produit par quatre adsorbants naturels.

Cette thèse a permis de démontrer le potentiel que présente la spectrophotométrie d'absorption UV-vis dans le contrôle qualité du médicament. L'analyse quantitative via cette méthode est aujourd'hui très vulgarisée et se trouve être la méthode la plus commune des laboratoires. Elle présente en effet l'intérêt d'être simple, facile, rapide, sensible et moins coûteuse.

La méthode proposée dans ce travail a ainsi pu être validée suivant l'approche classique de la validation analytique, en se référant aux différentes recommandations de l'ICH Q2R1 et de la SFSTP. Les critères étudiés à savoir la sensibilité, la linéarité, l'exactitude, la fidélité et les limites de détection et de quantification ont été tous satisfaisants.

Les conditions expérimentales ont également pu être étudiées, ce qui a permis d'optimiser certains paramètres de la méthode afin de fournir des résultats satisfaisants.

Les adsorbants naturels utilisés dans notre travail ont montré une diminution du taux de diclofénac sodique en fonction du temps. La montmorillonite se trouve être le meilleur adsorbant avec une capacité d'adsorption de 3,17 mg de diclofénac par gramme d'adsorbant à partir de 5 minutes, d'où on n'a pas pu établir de cinétique pour ce produit.

L'adsorption est donc un processus qui peut être utilisé pour débarrasser certains liquides de substances indésirables, il constitue de par-là, un moyen de recyclage des liquides ou solvants.

Le charbon actif, le schiste, la kaolinite et la montmorillonite peuvent ainsi être adaptés techniquement et économiquement notamment aux industries dans le traitement de leurs rejets liquides.

Compte tenu de la limite de détection de notre méthode, on ne pouvait pas suivre le taux du diclofénac sodique dans les rejets d'eau environnemental (qui était de l'ordre de ng/L dans la plupart des littératures et compte tenu de l'absence de données au Maroc), ce qui a limité notre étude à des essais au laboratoire. Néanmoins, ce sont des adsorbants qui peuvent être utilisés dans cette perspective de décontamination des eaux environnementales avec des méthodes extrêmement sensibles, mais aussi appliqués à d'autres substances médicamenteuses.

# **ANNEXES**

## **ANNEXE 1- Caractéristiques des réactifs et solvants utilisés**

- Acide nitrique HNO<sub>3</sub> :

Poids moléculaire = 63 g.mol<sup>-1</sup>  
Teneur minimale = 65 % (v/v)  
Normalité = 14 N  
Densité : d<sub>20/4</sub> = 1,40  
Pourcentage maximum d'impuretés : Métaux lourds (0,001)  
Chlorures (0,00025)  
Résidu (0,01)  
Société SOLVAPUR®, Réf. 520, lot 020206  
Consignes de sécurité : corrosif

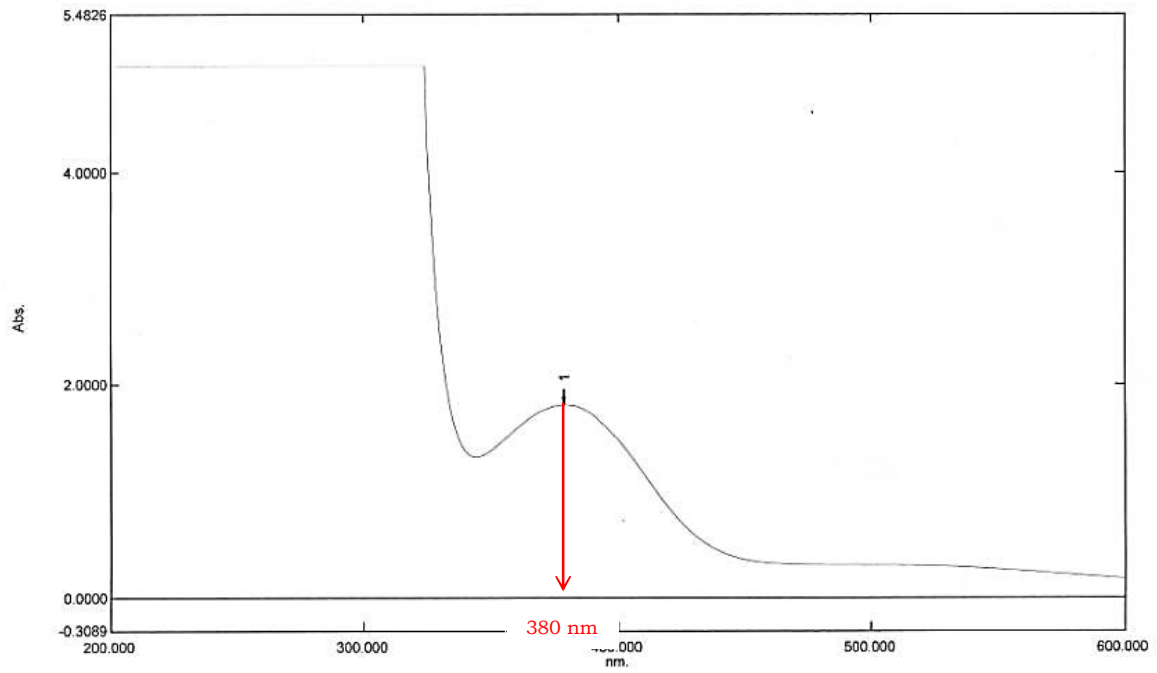
- Acétate d'éthyle CH<sub>3</sub>COC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> :

Poids moléculaire = 72 g.mol<sup>-1</sup>  
Pureté : 99,9 %  
Acidité : 0,001 meq/g  
Densité : d<sub>20/4</sub> = 0,901  
Distillation range : 77,4°C  
Ethanol : 0,1 %  
Eau : 0,03 %

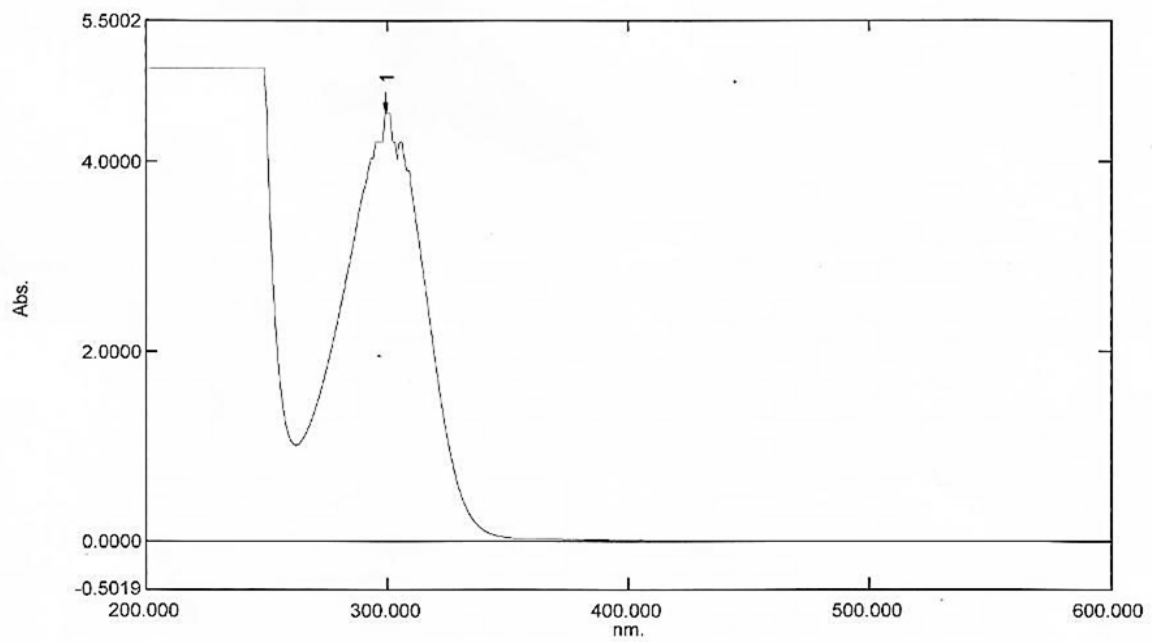
- Dichloroéthane CH<sub>3</sub>CHCl<sub>2</sub> :

Poids moléculaire = 98,96 g.mol<sup>-1</sup>  
Pureté : 99,8 %  
Densité : d<sub>20/4</sub> = 1,250 – 1,260

## ANNEXE 2 - Spectres d'absorption des solutions



*Figure 1 : Avant extraction du composé*



*Figure 2 : Phase aqueuse après extraction*

### ANNEXE 3 – Standards de calibration et de validation

<b>Niveau</b>	<b>Série</b>	<b>Quantité introduite (µg/ml)</b>	<b>Mesure 1</b>	<b>Mesure 2</b>	<b>Moyenne des absorbances (Mesure 1 &amp; 2)</b>	<b>Moyenne des absorbances des niveaux</b>
1	1	5	0,34709	0,33809	0,34259	<b>0,35794</b>
1	2	5	0,36444	0,38480	0,37462	
1	3	5	0,36433	0,34886	0,35660	
2	1	10	0,57379	0,55267	0,56323	<b>0,56418</b>
2	2	10	0,55745	0,57281	0,56513	
2	3	10	0,56670	0,56544	0,56418	
3	1	15	0,71020	0,69850	0,70435	<b>0,70758</b>
3	2	15	0,70725	0,70730	0,70728	
3	3	15	0,71210	0,71013	0,71112	
4	1	20	0,90123	0,86806	0,88465	<b>0,88696</b>
4	2	20	0,90756	0,86033	0,88395	
4	3	20	0,88252	0,90205	0,89229	
5	1	30	1,17465	1,19424	1,18445	<b>1,18240</b>
5	2	30	1,13647	1,19743	1,16695	
5	3	30	1,21565	1,17597	1,19581	

## ANNEXE 4 – Données de la validation analytique

- Linéarité

Essai	Quantité introduite (µg/ml)	DO	Moyenne [Yij]	Variance
1	5	0,34259	<b>0,357935</b>	<b>0,0002578</b>
2	5	0,37462		
3	5	0,35660		
1	10	0,56323	<b>0,56418</b>	<b>9,025E-07</b>
2	10	0,56513		
3	10	0,56418		
1	15	0,70435	<b>0,70758</b>	<b>1,151E-05</b>
2	15	0,70728		
3	15	0,71112		
1	20	0,88465	<b>0,8869583</b>	<b>2,14E-05</b>
2	20	0,88395		
3	20	0,89229		
1	30	1,18445	<b>1,1824017</b>	<b>0,0002114</b>
2	30	1,16695		
3	30	1,19581		
	<b>16</b>	<b>0,084768972</b>	<b>0,0988133</b>	<b>0,000503</b>
Varxij	<b>69,23076923</b>	<b>VT</b>	<b>VK</b>	

- Test de Cochran (homogénéité des variances)

$S_{j \max}^2$	$\sum S_j^2$	$C_{\text{calculé}} = S_{j \max}^2 / \sum S_j^2$	$C_{(0,05 ; k ; n-1)}$
<b>0,000257827</b>	0,00050300	<b>0,5126</b>	<b>0,6838</b>
$C_{\text{calculé}} < C_{\text{tabulé}}(0,05 ; 5 ; 3)$ <b>C/C: Les variances sont homogènes au risque <math>\alpha=5\%</math></b>			

- Test de la pente

Origine de la variation	ddl	SCE	Variances	F <sub>calculé</sub>	F <sub>(0,05 ; 1 ; 13)</sub>
Variation due à la régression	1	1,1808	1,180831773	2587	4,67
Variation résiduelle	13	0,005933828	0,000456448		
Variation totale	14	1,186765601			
<p>F<sub>calculé</sub> &gt; F<sub>Tabulé</sub> (0,05 ; 1 ; N-2) ;  p &lt;&lt;&lt; 0,05 on rejete H<sub>0</sub>  C/C: L'existence d'une pente est significative</p>					

- Exactitude

Essai	Quantité int (µg/ml)	DO	Quantité ret (µg/ml)	Recouvrement %	Moyenne
1	5	0,34259	3,7996875	75,99375	85,584375
1	5	0,37462	4,800625	96,0125	
1	5	0,35660	4,2373438	84,746875	
2	10	0,56323	10,694688	106,946875	107,24375
2	10	0,56513	10,754063	107,540625	
2	10	0,56418	10,724375	107,24375	
3	15	0,70435	15,104688	100,6979167	101,37083
3	15	0,70728	15,196094	101,3072917	
3	15	0,71112	15,316094	102,1072917	
4	20	0,88465	20,738906	103,6945313	104,05599
4	20	0,88395	20,717031	103,5851563	
4	20	0,89229	20,977656	104,8882813	
5	30	1,18445	30,107656	100,3588542	100,14601
5	30	1,16695	29,560938	98,53645833	
5	30	1,19581	30,462813	101,5427083	
				<b>74,47153707</b>	<b>69,530581</b>
				99,68019097	

IC = [94,9- 104,46], IC : Intervalle de confiance

- Fidélité

Quantité int (µg/ml)	DO	Quantité ret (µg/ml)	Recouvrement %
10	<b>0,56323</b>	10,6946875	106,94688
10	<b>0,56513</b>	10,7540625	107,54063
10	<b>0,56418</b>	10,724375	107,24375
15	<b>0,70435</b>	15,1046875	100,69792
15	<b>0,70728</b>	15,19609375	101,30729
15	<b>0,71112</b>	15,31609375	102,10729
20	<b>0,88465</b>	20,73890625	103,69453
20	<b>0,88395</b>	20,71703125	103,58516
20	<b>0,89229</b>	20,97765625	104,88828

## RÉFÉRENCES

- [1] INERIS, **2011**, Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Diclofénac, 57p. (<http://rsde.ineris.fr/>).
- [2] Chao-meng Dai et al, Selective removal of diclofenac from contaminated water using molecularly imprinted polymer microspheres, *Environmental Pollution* 159 (**2011**) 1660-1666.
- [3] Thèse N° 4065, Apport des spectroscopies moléculaires à l'étude des mécanismes de fixation des ions métalliques polluants par les substances humiques: complexation de Al (III), Pb<sup>2+</sup> et Zn<sup>2+</sup> par des systèmes modèles, Université des Sciences et Technologies de Lille, **2007**.
- [4] Francis Rouessac et Annick Rouessac, *Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes*, Paris, Edition Dunod, 6<sup>e</sup> édition, **2004**, 459p. format électronique.
- [5] Ayman Gouda et al, Spectrophotometric and spectrofluorometric methods for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review, *Arabian Journal of Chemistry*(**2013**)6, 145-163.
- [6] E. A. Gadkarien, A new spectrophotometric method for the determination of methyldopa, *Saudi Pharmaceutical Journal* (**2009**) 17, 289-293.
- [7] Kudige Nagaraj P. et al, Development and validation of uv spectrophotometric methods for the determination of sumatriptan succinate in bulk and pharmaceutical dosage form and its degradation behavior under varied stress conditions, *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences* (**2013**), article in press.

- [8] NafisurRahman et al, Optimized and validated spectrophotometric methods for the determination of amiodarone hydrochloride in commercial dosage forms using N-bromosuccimide and bromothymol blue, Journal of Saudi Chemical Society (**2013**), article in press.
- [9] Syed Najmul H. A. et al, Quantitative analysis of cefixime via complexation with palladium (II) in pharmaceutical formulations by spectrophotometry, Journal of Pharmaceutical Analysis **2013**; 3(4): 248-256.
- [10] B.S. Nagaralli et al, Sensitive spectrophotometric methods for the determination of amoxicillin, ciprofloxacin and piroxicam in pure and pharmaceutical formulation, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 29 (**2002**) 859-864.
- [11] C. Bosch Ojeda, F. Sanchez Rojas, Recent application in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2009-2011, Microchemical Journal 106 (**2013**) 1-16.
- [12] Mahfuza Maleque, Development and validation of a simple uv spectrophotometric method for the determination of levofloxacin both in bulk and marketed dosage formulations, Journal of Pharmaceutical Analysis, **2012**, 2(6): 454-457.
- [13] Madihalli S., Optimized and validated spectrophotometric methods for the determination of levocetirizine in pharmaceutical based on charge transfer reaction, Journal of the Association of Arab Universities for basic and Applied Sciences (**2012**) 12, 33-41.
- [14] Sonia T. Hassib, Liquid chromatographic and spectrophotometric methods for the determination of erythromycin stearate and trimethoprim in tablets, Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University (**2011**) 49, 81-89.

- [15] Abdalla A., Alawia H. E., Spectrophotometric determination of pyrimethamine in pharmaceutical formulation using 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate, *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences* (2012) 11, 32-36.
- [16] Abd El-Maaboud, determination of lamivudine and stavudine in pharmaceutical preparations using chemometric-assisted spectrophotometry, *Saudi Pharmaceutical Journal* (2009) 17, 275-281.
- [17] Nour el deen Sayed et al, Spectrophotometric, chemometric and chromatography determination of naphazoline hydrochloride and chlorpheniramine maleate in the presence of naphazoline hydrochloride alkaline degradation product, *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* (2013) 51, 57-68.
- [18] Sahu et al, 2009, *Journal Indian Chemical Society* 86(3), 308-311.
- [19] Singhri, Goyal, 2007, *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, 69, 164
- [20] Alarfaj, 2009, *Asian Journal Chem.* 21(1), 217-226.
- [21] M. Reza et al, A new kinetic spectrophotometric method for the determination of major metabolite of heroin in biological samples, *Chinese Chemical Letters* 23(2012) 611-614.
- [22] Hany A. Omara, Alaa S. Amin, Extractive-spectrophotometric methods for the determination of antiparkinsonian drug in pharmaceutical formulation and in biological samples using sulphonphthalein acid dyes, *Journal of Saudi Chemical Society* (2012) 16, 78-81.
- [23] M. Jamaluddin, A simple spectrophotometric method for the determination of cobalt in industrial environmental, biological and soil samples using bis(salicylaldehyde)orthophenylenediamine, *Chemosphere* 67 (2007) 2020-2027.

- [24] Ahmed S. Al-Kady, Highly sensitive and selective spectrophotometric detection of trace amount of  $Hg^{2+}$  in environmental and biological samples based on 2,4,7-triamino-6-phenylpteridine, *Sensors and Actuators B182* (2013) 87-94.
- [25] Ahmed S. Al-Kady, Selective and sensitive spectrophotometric method for the determination of trace amount of zirconium in environmental and biological samples using 4-chloro-N-(2,6-dimethylphenyl)-2-hydroxy-5-sulfamoylbenzamide, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 97(2012) 284-289.
- [26] Mehmet Ozturk, A new rapid spectrophotometric method to determine the rosmarinic acid level in plant extracts, *Food Chemistry* 123(2010) 1352-1356.
- [27] Carolina V. Waiman, A simple and rapid spectrophotometric method to quantify the herbicide glyphosate in aqueous media: Application to adsorption isotherms on soil and goethite, *Geoderma* 170(2012) 154-158.
- [28] Rafael Carlos E., Spectrophotometric method for quantification of kahweol in coffee, *Journal of Food Composition and Analysis* 31(2013) 137-143.
- [29] M. S. El-Shahawi, A new method for analysis of sunset yellow in food samples based on cloud point extraction prior to spectrophotometric determination, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 19(2013) 529-535.
- [30] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Bonnes pratiques de fabrication (BPF), N° 2011/8bis.
- [31] US Food and Drug Administration, Guideline on general principles of process validation (1987).

- [32] International Conference on Harmonisation (ICH), Validation of analytical procedures: Text and methodology, **Q2 (R1), version 4, 2005**.
- [33] Sharma Ajay, Sharma Rohit, Validation of analytical procedures: A comparison of ICH VS Pharmacopoeia (USP) VS FDA, International Research Journal of Pharmacy **2012**, 3(6).
- [34] Michèle Désenfant, De la validation des methods d'analyse à l'évaluation de l'incertitude des résultats de mesure, Laboratoire National d'Essais BNM-LNE, **2005**, 6p.
- [35] M. El M'Rabet et al, Adsorption of carbofuran and fenamiphos by Moroccan soils, Agrochimica, Vol. XLXI-N,1-2, Gennaio-**Avril 2002**.
- [36] Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS), Traitement des gaz dangereux captés sur les lieux de travail, ED4263, **2006**, 6p.
- [37] Pharmacopée Européenne, 6<sup>e</sup> édition, **2007**, version électronique.
- [38] Wisanu Thong Chai, High performance thin layer chromatographic method for the determination of diclofenac sodium in pharmaceutical formulations, Chiang Mai J. Sci. **2006**; 33 (1): 123-128.
- [39] ZholtKormosh, Potentiometric determination of diclofenac in pharmaceutical formulation by membrane electrode based on ion associate with base dye, Chinese Chemical Letters 18(**2007**) 1103-1106.
- [40] G. Pandey, Spectrophotometric, chromatographic and spectrofluorometric methods for the determination of diclofenac: A review, Der Pharmacia Letter, **2011**, 3(6): 257-265.
- [41] A.A. Matin et al, A simple spectrophotometric method for determination of sodium diclofenac in pharmaceutical formulation, IL Farmaco 60(**2005**) 855-858.
- [42] Agence de l'eau Artois-Picardie, Substances médicamenteuses dans les rivières, AEAP/DRM/SEM, EA/CH/JP-**Déc 2010**, 25p.

[43] El Habib El Azzouzi et al, The effet of Cu and Cu-humic acids on the adsorption of imazethapyr herbicide by montmorillonite clay, *Biotechnol.Agron.Soc.Environ.***2010**-14(4), 659-665.

[44] Thèse de l'université de Toulouse, Etude expérimentale et modélisation d'un procédé séquentiel AD-OX d'élimination de polluants organiques, Institut National Polytechnique de Toulouse, **2010**.

## RESUME

**Titre :** Développement et validation d'une méthode de dosage du diclofénac sodique par UV-visible : Essais de décontamination par des adsorbants naturels.

**Auteur :**SALEY Lawan Mahaman Missibahou

**Rapporteur :** Professeur Abdelaziz BOUKLOUZE

**Mots clés :**UV-visible, optimisation, validation, diclofénac sodique, adsorption.

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode très largement utilisée notamment en industrie pharmaceutique dans le contrôle qualité de médicaments. La validation de ces méthodes analytiques a pris une grande importance dans la mesure où elle permet de fournir des résultats fiables.

L'objectif de cette thèse est l'optimisation et la validation d'une méthode simple de dosage du diclofénac sodique par spectrophotométrie uv-visible conformément aux guidelines ICH Q2R1 et SFSTP 1992 suivi de son application pour déterminer le diclofénac dans des solutions après décontamination par des adsorbants naturels.

La méthode proposée est basée sur une réaction du diclofénac sodique avec l'acide nitrique 14 M, conduisant à un composé coloré en jaune extractible par l'acétate d'éthyle. L'absorbance maximale a été mesurée à 353 nm. La loi de Beer est respectée pour des concentrations allant de 5 à 30 µg/ml de diclofénac sodique avec un coefficient de corrélation  $r = 0,9982$ . Les limites de détection et de quantification étaient de 1,012µg/ml et 3,067µg/ml respectivement. La méthode a été validée en déterminant le diclofénac contenu dans deux formulations pharmaceutiques (XENID® injectable et DICLOBERL® comprimé). Les pourcentages de recouvrement étaient de 102,8 et 102,65 % respectivement. Le taux de diclofénac a ensuite été suivi dans des solutions décontaminées par des adsorbants naturels. La montmorillonite a présenté le meilleur pouvoir adsorbant avec 84 % de décontamination en 5 min, suivi du schiste activé avec 80,3 % (5 min) jusqu'à 94,3 % en 45 min, puis du charbon actif avec 29,3 % (5 min) jusqu'à 79,6 % en 30 min, et enfin de la kaolinite avec 14 % (5 min) jusqu'à 57,2 % en 2h30 de décontamination.

## SUMMARY

**Title:** Development and validation of a method for the determination of diclofenac sodium by UV-visible: Testing of decontamination by natural adsorbents.

**Author:**SALEY Lawan Mahaman Missibahou

**Reporter:** Professor Abdelaziz BOUKLOUZE

**Key words:** UV-visible, optimization, validation, diclofenac sodium, adsorption.

The UV-visible absorption spectroscopy is a method widely used in the pharmaceutical industries especially in quality control of drugs. The validation of these analytical methods has become very important since it allows providing reliable results.

The aim of this thesis is the optimization and validation of a simple method used for the determination of diclofenac sodium by uv-visible spectrophotometry in accordance with the International Conference on Harmonisation (ICH) guidelines Q2R1 and FSPST 1992 followed by its application to determine the presence of diclofenac in solutions that have been decontaminated using natural adsorbents.

The proposed method is based on a reaction of diclofenac sodium with nitric acid (14 M) giving a yellow colored compound, which is extracted by ethyl acetate. The maximum absorbance was measured at 353 nm. Beer's law was obeyed with concentrations ranging from 5-30 µg/ml of diclofenac sodium with a correlation coefficient of  $r = 0.9982$ . The limits of detection and quantification were 1.012 µg/ml and 3.067 µg/ml respectively. The method was validated by determining the diclofenac in two pharmaceutical formulations (XENID® injectable and DICLOBERL® tablet). The recovery percentages were 102.8 and 102.65 % respectively. The rate of diclofenac was then analyzed in the solutions decontaminated by natural adsorbents. Montmorillonite had the best adsorbent power with 84% in 5 min of decontamination, followed by shale activated with 80.3% (5 min) to 94.3% in 45 min, then activated carbon with 29.3% (5 min) to 79.6% in 30 min, and finally kaolinite with 14% (5 min) to 57.2% in 2:30min of decontamination.

## المخلص

العنوان:

تطوير واعتماد طريقة لتحديد مقدار ديكلو فيناكالصوديوم بواسطة الأشعة فوق البنفسجية المرئية :  
اختبار إزالة التلوث بواسطة الممتزات الطبيعية .

المقرر: الأستاذ عبد العزيز بوكروز

إعداد: ساليلاو انعامات مصباحو

كلمات البحث الرئيسية: الأشعة فوق البنفسجية المرئية، والتحسين، والمصادقة، ديكلو فيناكالصوديوم، والامتزاز .

يعتبر القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية - المرئية منهجية مستخدمة على نطاق واسع في صناعة المستحضرات الصيدلانية على وجه الخصوص وذلك في مراقبة جودة الأدوية . وقد حظي اعتماد هذه الأساليب التحليلية باهتمام كبير لكونه يسهل تقديم نتائج موثوق بها.

والهدف من هذا الأثر هو تحسين واعتماد طريقة بسيطة لتحديد مقدار ديكلو فيناكالصوديوم بواسطة القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية - المرئية وفق المبادئ التوجيهية CH أو Q2R1 ، و SFSTP 1992 متبوعة بتطبيقها لتحديد ديكلو فيناك في مجال البعد إزالة التلوث عن طريق ممتزات طبيعية .

وتستند هذه الطريقة المقترحة على دفع لمد ديكلو فيناك مع حمض النيتريك M 14 ، مما يؤدي إلى خليط ملون بالأصفر مستخرج بواسطة خلاطات الإيثيل . وقد تم قياس الحد الأقصى لامتصاصية في 353 نانومتر . لوحظ أنه قد تم احترام قانون بير بخصيص تركيز انتتر او حمن 5 إلى 30 جم / مل من ديكلو فيناكالصوديوم مع معامل الارتباط  $r = 0,9982$  . وكانت حدود الكشف وتحديد الكمية على التوالي 1,012 ملغ / ملو أيضا 3,067 جم / مل . وقد تمت المصادقة على الأسلوب عن طريق تحديد ديكلو فيناك الموجود في اثنين من المستحضرات الصيدلانية (XENID للحقن و DICLOBERL أقراص) . وكانت النسب المئوية للاسترداد على التوالي 102,8 و 102,65 % .  
ثم أعقب معد ديكلو فيناك في حل لتطهير من قبل الممتزات الطبيعية . وقد قدمون تمورينو ليتاً أفضل قدرة ممتزات بنسبة 84 % في إزالة التلوث خلال خمس دقائق، تليها الصخر الزيتي بالنسبة 80,3 % (5 دقائق) حتى 94,3 % في 45 دقيقة، ثم الكربون النشط بنسبة 29.3 % (5 دقائق) حتى 79.6 % خلال 30 دقيقة، وأخير الكولن بنسبة 14 % (5 دقائق) حتى 57.2 % في ساعتين و 30 دقيقة من إزالة التلوث .

# *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 publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;*

*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 des 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  
وأحس 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.

"والله على ما أقول شهيد"

أطروحة رقم: 87

سنة: 2013

**تطوير واعتماد طريقة لتحديد مقدار ديكلوفيناك الصوديوم  
بواسطة الأشعة فوق البنفسجية المرئية:  
اختبار إزالة التلوث بواسطة المميزات الطبيعية**

**أطروحة**

قدمت ونوقشت علانية يوم: .....

من طرف

**السيد: سالي لاوان محامان ميصباحو**

المزاد في: 03 ماي 1989 بطاهوا (النيجر)

**لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة**

**الكلمات الأساسية:** الأشعة فوق البنفسجية المرئية - التحسين - المصادقة - ديكلوفيناك الصوديوم - الامتزاز.

**تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة**

رئيس

السيد: يحيى الشراح

أستاذ في علم الصيدلة

مشرف

السيد: عبد العزيز بوكلوز

أستاذ في التطبيقات الصيدلانية

أعضاء

السيد: محمد أنصار

أستاذ في الكيمياء العضوية و الصيدلة الكيماوية

السيد: مولاي عباس فوزي

أستاذ في علم الصيدلة

ضيف

السيد: محمد بن لمرباط

أستاذ في الكيمياء بمعهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة