

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOAND OULHADJ-BOUIRA



Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées
Département de chimie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de **Master 02** en :

Domaine : **SM**

Filière : **chimie**

Spécialité : **chimie des matériaux**

Thème :

Les propriétés physico-chimiques du Diclofénac sodique

Présenté par :

BOUCHELKIA Manel

REDJEDAL Yasmina

Devant le jury composé de :

Mme HALEM Zohra	MCB	UAMOB	Présidente
Mr KAOUA Rachedine	MCA	UAMOB	Encadreur
Mr SEDKAOUI Youcef	MCA	UAMOB	Examineur

Année Universitaire 2021/2022

Remerciement

Nous remercions Allah, notre Dieu qui nous a donné la force et la patience pour accomplir ce travail.

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre promoteur **Mr R. KAOUA** qui a mis toutes ses compétences et ses efforts à notre disposition et pour son suivi régulier ainsi ses conseils précieux pour l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance aux membres des Jurys **Mme Z. HALEM** et **Mr Y. SEDKAOU** d'avoir accepté d'examiner et de juger notre rapport de soutenance.*

*Nous remercions également notre chef de département **Mme HALEM Zohra** ainsi que l'ensemble des enseignants du département de chimie*

Dédicaces

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce travail de fin d'études à mes chers parents qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux. J'espère qu'un jour je pourrai leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leurs prête bonheur et longue vie.

Je dédie aussi ce travail à mon cher frère « Karim », mes sœurs « maya », « Leticia », « Dounia », ma cousine « Lina » et ma famille, mes amies à tous les enseignants qui m'ont enseigné.

À ma collègue « Yasmina » nous sommes restés amies dans les hauts et les bas de nos vies. . Ma seule et unique véritable amie, chanceuse de t'avoir à mes côtés, je te remercie de tolérer chaque jour mes idioties et mes petites folies.

A toutes les personnes que j'aime.

Manel

Dédicaces

C'est à cœur ouvert, avec un énorme plaisir, une immense joie que je dédie ce mémoire de fin d'études à tous ceux qui me sont chers

Tout les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance que j'ai pour vous mes très chers parents.

Ma tendre maman BELKACEM DJAMLA; je te remercie pour ton amour inconditionnel, mon cher papa ACHOUR que je remercie pour ses précieux conseils.

Je vous remercie pour tous les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction, ma réussite et mon bien-être.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse DIEU, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Mon mari BELKACEM MEROUANE : tes sacrifices, ton soutien moral, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études. Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein.

A mes sœurs HANA et NASMNA, à mon frère MOHAMED et son fils ILIAS : je vous dédie ce travail avec tout mes vœux de bonheur, de santé, de réussite en témoignage de l'affection, de l'attachement et de l'amour que je porte pour vous.

A mon très cher binôme MANEL, tu es pour moi plus qu'une amie une confidente, une sœur... je te souhaite tout le bonheur du monde et Merci de toujours être là pour moi.

NASMNA

Sommaire

Remerciement	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Etude bibliographique.....	3
Introduction.....	3
Le Diclofénac sodique	3
Synthèse du Diclofénac sodique	3
Présentation du médicament	7
Propriétés physico-chimique	7
Techniques d'analyses utilisées	8
La spectrophotométrie d'absorption uv-visible	8
Principe de la spectroscopie uv visible	9
Fonctionnement d'un spectrophotomètre uv visible	9
Les conditions d'utilisation de la spectrophotométrie UV visible	10
Loi de Beer Lambert et son domaine d'application	11
Spectroscopie infrarouge	11
Domaine d'application de la spectroscopie infrarouge	12
Principe de la spectroscopie IR.....	12
Principales partie d'un spectrophotomètre IR	13
Spectroscopie de masse	14
Le principe de la spectroscopie de masse	14
Appareillage	14
La résonance magnétique nucléaire	15
Principe de la spectroscopie RMN.....	15
Applications de la spectroscopie RMN	15
Chapitre II : Méthodes et matériels..	17
Comprimés.....	17

Sommaire

Caractère	17
Aspect.....	17
Essai.....	18
Masse moyenne.....	19
Les tests de solubilité.....	19
Préparation des solutions de NaOH à différentes concentrations	21
Préparation de la solution du principe actif	21
Préparation de la solution mère de Biofenac 50mg à différentes concentrations de NaOH..	22
Préparation de la solution de Biofenac 75mg à différentes concentrations de NaOH.....	22
Préparation de la solution de Biofenac 100mg à différentes concentrations de NaOH	22
Chapitre III : Résultats et discussions.	24
Caractérisation du Diclofénac sodique par les différentes techniques d'analyses	24
Spectroscopie infrarouge	24
Spectroscopie RMN du proton	27
La spectroscopie de masse	28
L'analyse avec l'UV visible	29
Spectre UV visible du Diclofénac sodique	29
Détermination des courbes d'étalonnages	30
Le choix de la concentration nécessaire de NaOH	34
Interprétation des résultats obtenus des trois formes de Biofenac (50mg,75mg et 100mg à différentes concentration de NaOH	35
Courbe d'ettalonnage du Diclofénac (principe actif) à 0.5mol/l de NaOH	36
Critères de validation analytique	37
Validation de la méthode de dosage du Diclofénac sodique dans le comprimé	37
La linéarité	37
La spécificité.....	38
L'exactitude	39
La fidélité	40
L'erreur relative.....	42
La justesse	43
Conclusion générale	44
Références bibliographiques	45

Liste des figures

Figure I.1 : Synthèse de Diclofénac à partir du N-Phényl- 2,6 –dichloroaniline.....	3
Figure I.2 : Synthèse de DS par développée par l’action de la dichloroaniline sur l’acide chloro-2-benzoïque.....	4
Figure I.3 : La synthèse de Diclofénac par l'acide iodophénylacétique et la 2,6-dichloroaniline.....	4
Figure I.4 : L’addition de methyl-2-nitrobenzene sur le diéthyle oxalate en milieu basique.....	5
Figure I.5 : Conversion de tétrachlorocyclohexanone en Diclofénac sodique	6
Figure I.6 : La synthèse de DS en utilisant l’aniline.....	6
Figure I.7 : Formes commerciales du médicament biofenac	7
Figure I.8 : Spectrophotomètre UV VISIBLE	8
Figure I.9 : Principe de la spectroscopie UV VISIBLE	9
Figure I.10 : Fonctionnement d’un spectrophotomètre	10
Figure I.11 : Cellule	10
Figure I.12 : Spectrophotomètre IR	12
Figure I.13 : Domaines d’application d’IR.....	12
Figure I.14 : Principales partie d’un spectrophotomètre IR	13
Figure I.15 : Spectromètre de masse	14
Figure I.16 : Spectromètre RMN	15
Figure II.1 : Balance électronique	18
Figure II.2 : Test de solubilité	20
Figure II.3 : Principe actif	22
Figure II.4 : Solution de PA sous l’agitation magnétique	22
Figure II.5 : Solutions diluées	23
Figure III.1 : Spectre IR du principe actif	24
Figure III.2 : Spectre IR du biofenac 50mg.....	24
Figure III.3 : Spectre IR du biofenac 75mg.....	25

Figure III.4 : Spectre IR du biofenac 100mg.....	25
Figure III.5 : Superposition des 4 spectres IR	26
Figure III.6 : La Structure du DS	26
Figure III.7 : Spectre RMN du Diclofénac sodique.....	27
Figure III.8 : La structure (a).....	28
Figure III.9 : Spectre de masse du Diclofénac sodique	28
Figure III.10 : Mécanisme de fragmentation	29
Figure III.11 : Spectre UV du Diclofénac sodique	30
Figure III.12 : Spectre d'absorption de Diclofénac sodique en milieu aquatique	30
Figure III.13 : Courbes d'étalonnages du biofenac 50 mg à différentes concentrations de NaOH	31
Figure III.14 : Courbes d'étalonnages du biofenac 75 mg à différentes concentrations de NaOH.....	32
Figure III.15 : Courbes d'étalonnages du biofenac 100 mg à différentes concentrations de NaOH	33
Figure III.16 : Courbes de la concentration en fonction du coefficient de corrélation des 3 formes du biofenac	34
Figure III.17 : L'absorbance en fonction de la concentration à 0.5 mol/l.....	35
Figure III.18 : Courbe d'étalonnage de PA à 0.5mol/l	36
Figure III.19 : Droite de la linéarité	37
Figure III.20 : Spécificité de la méthode de dosage de Diclofénac	38

Liste des tableaux

Tableau I.1: Les propriétés physico-chimique du Diclofénac sodique	7
Tableau II.1: Aspect des comprimés de biofenac 50mg ,75mg et 100mg.....	17
Tableau II.2 : Masses de chaque comprimé de biofenac 50mg,75mg et 100mg.....	18
Tableau II.3 : Masse moyenne de 10 comprimés de biofenac 50mg,75mg et 100mg.....	19
Tableau II.4: Tests de solubilité	20
Tableau III.1: Absorbances de biofenac 50mg à différentes concentrations de NaOH	31
Tableau III.2 : Absorbances de biofenac 75mg à différentes concentrations de NaOH....	32
Tableau III.3 : Absorbances de biofenac 100mg à différentes concentrations de NaOH..	33
Tableau III.4: Résultats obtenus d'analyse de PA à 0.5mol/l.....	36
Tableau III.3 : Paramètres de la linéarité	38
Tableau III.4: Résumé des donnés de l'exactitude	39
Tableau III.5 : Résumé des données de la fidélité	40
Tableau III.6: Calculs des paramètres de la fidélité	41

Liste des Abréviations

DS : Diclofénac sodique.

UV : Ultraviolet – visible.

IR : Infrarouge.

IRTF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier .

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

DMSO : Diméthylsulfoxyde

CV (%) : Coefficient de variation.

IC : Intervalle de confiance.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

Introduction générale

Introduction générale

La pollution de l'eau par les substances pharmaceutiques est une grande menace pour la sécurité mondiale. Plusieurs études scientifiques ont révélé la présence des traces de produits pharmaceutiques dans l'eau, une étude sur 139 cours d'eau dans 30 États menée par l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis (EPA) et par U.S. Geological Survey a montré la présence de traces des médicaments d'ont 80 % des échantillons. Ont ainsi été retrouvées des traces de somnifères, d'antidépresseurs, de contraceptifs, d'aspirine et de la paracétamol, d'anti-inflammatoires, d'antiépileptiques, d'anticancéreux, de médicaments contre la tension artérielle et autres substances [1].

Parmi ces substances pharmaceutiques polluantes, il existe le Diclofénac connu comme un composé nocif de l'environnement et fréquemment détecté dans les rejets d'eau. De ce fait, il est considéré comme un micropolluant organique qui forme un grand risque aux populations aquatiques et d'oiseaux. Le rejet de ce médicament sous forme d'urine ou déchet pharmaceutique par le consommateur ou l'industrie pharmaceutique respectivement, nécessite le développement des techniques analytiques simples et moins coûteuses pour faciliter la détection et la lutte contre la pollution de l'environnement.

La spectrophotométrie UV-Visible est une technique analytique très utilisée aux laboratoires pour la détection, l'identification, la caractérisation ainsi que la quantification de composées chimiques, elle possède plusieurs avantages d'utilisation simple, rapide, exacte, sensible et non coûteuse mais elle est limitée dans l'analyse qualitative.

La validation d'une méthode est le procédé par lequel on confirme que la procédure analytique employée pour mener un test en particulier répond aux exigences de l'usage auquel elle est destinée. Les résultats peuvent être utilisés pour juger la qualité, la fiabilité et la cohérence des résultats analytiques. [2]

Ce travail a pour objectif le développement d'une technique de dosage simple et moins coûteuse et aussi la caractérisation du Diclofénac sodique par les différentes techniques spectroscopiques UV-visible, IR, RMN et spectroscopie de masse dosage.

Ce travail s'organise autour de trois parties :

Après l'introduction générale, le premier chapitre présente une étude bibliographique sur la synthèse du Diclofénac et la présentation des différentes techniques spectroscopiques utilisées.

Introduction générale

Dans le deuxième chapitre, nous présenterons le matériel et les différentes techniques d'analyse utilisées.

Le troisième chapitre est consacré, tout d'abord, à la construction d'un protocole expérimental simple permettant de mesurer la quantité de Diclofénac existant dans un échantillon, ensuite, nous présentons les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, ce travail est achevé par une conclusion générale.

Chapitre I

Etude Bibliographique

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1 Introduction

Un médicament est utilisé pour le traitement d'une maladie, la soigner, la guérir ou calmer une douleur. Il est composé d'un produit actif contre la maladie ou la douleur et des excipients qui lui donnent sa forme, son goût, sa couleur et déterminent comment le médicament va circuler dans le corps. Ils existent sous plusieurs formes, comme comprimé, sirop, gélule, spray... et etc.

Il est souvent classé par son effet pharmacologique on distingue les analgésiques, les antihypertenseurs, les anti-inflammatoires, les antiasthmatiques, les antipsychotiques, les antibiotiques ...et etc.

Dans cette mise au point bibliographique, nous présentons l'anti-inflammatoire non stéroïdien, le Diclofénac sodique, qui présente l'objet de notre travail.

I.2 Le Diclofénac sodique

Le Diclofénac de sodium est un dérivé de l'acide anilinophénylacétique .[3] Il possède des propriétés anti-inflammatoires non stéroïdiens, analgésiques et antipyrétiques. Il existe sous la forme de plusieurs produits pharmaceutique comme le Biofenac, le voltarene et le voltum

I.2.1 Synthèse de Diclofénac sodique

Moser et al. Ont synthétisé le Diclofénac à partir du N-Phényl- 2,6 -dichloroaniline, selon la figure (I.1) suivante :

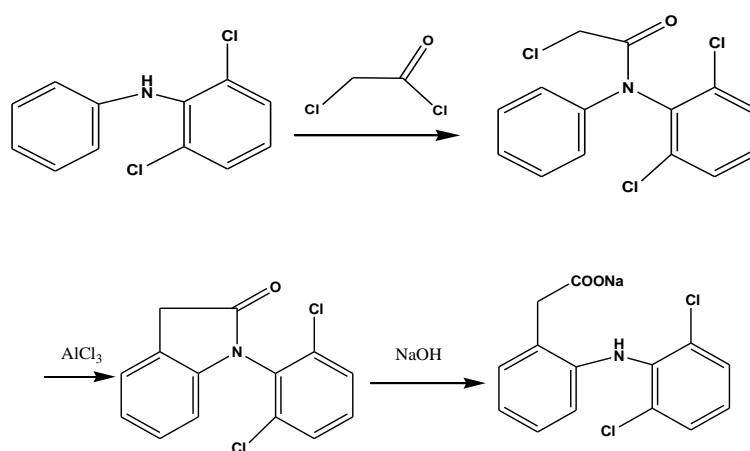


Figure I .1 : Synthèse de Diclofénac à partir du N-Phényl- 2,6 – dichloroaniline [4]

Etude Bibliographique

Une autre synthèse a été développée par l'action de la dichloroaniline sur l'acide chloro-2-benzoïque comme montre la figure(I.2) ci-dessous :

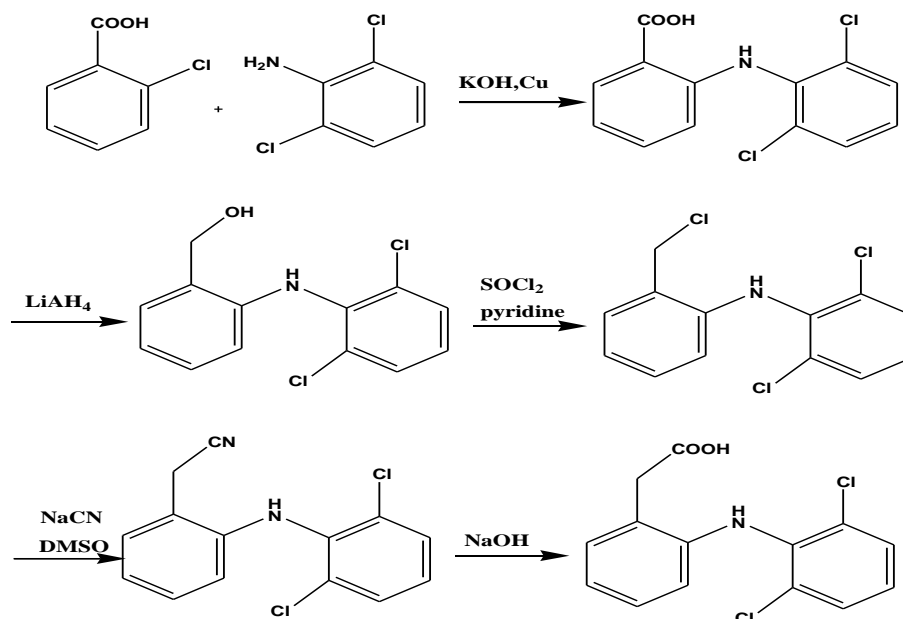


Figure I.2 : Synthèse de Diclofénaç par l'action de la dichloroaniline sur l'acide chloro-2-benzoïque

Certaines sociétés pharmaceutiques ont adopté la synthèse de Diclofénaç (Figure I.3) par l'utilisation de l'acide iodophénylacétique et la 2,6-dichloroaniline selon des conditions appropriées [5].

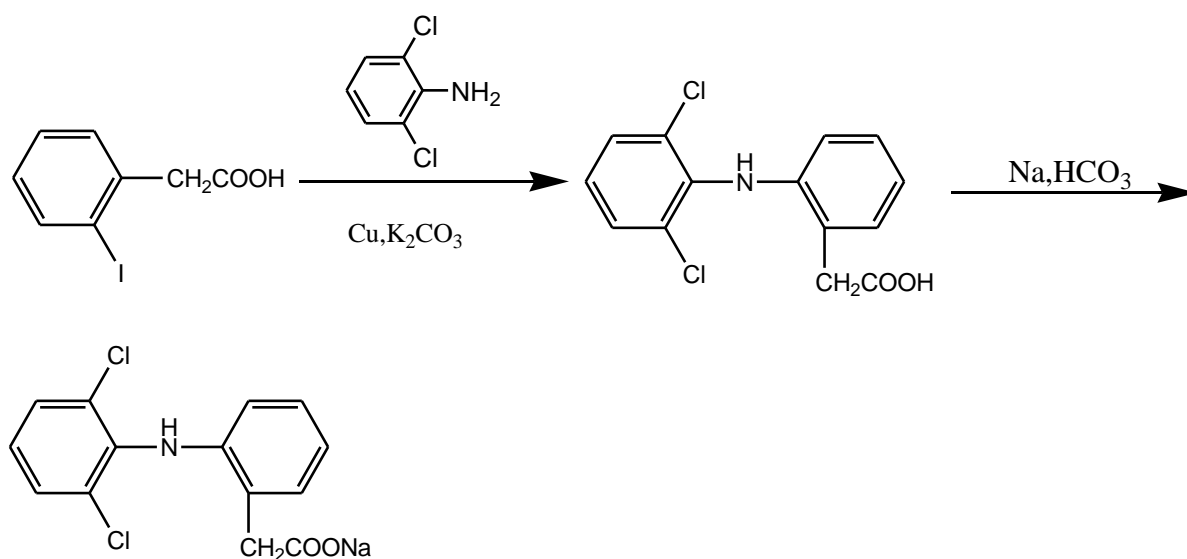


Figure I.3 : Synthèse de Diclofénaç par l'acide iodophénylacétique et la 2,6-dichloroaniline

Etude Bibliographique

Une autre approche de synthèse du Diclofénac a été étudié par Moser et all, utilisant la réaction d'addition de methyl-2-nitrobenzene sur le diéthyle oxalate en milieu basique, conduit à l'activation du méthyl de phényleen carbanion, suivi par la réduction de la fonction nitrile en fonction amine, cette dernière réagit sur le 1,3-dichloro-2-iodobenzene pour former le produit final, le Diclofénac sodique. [6]

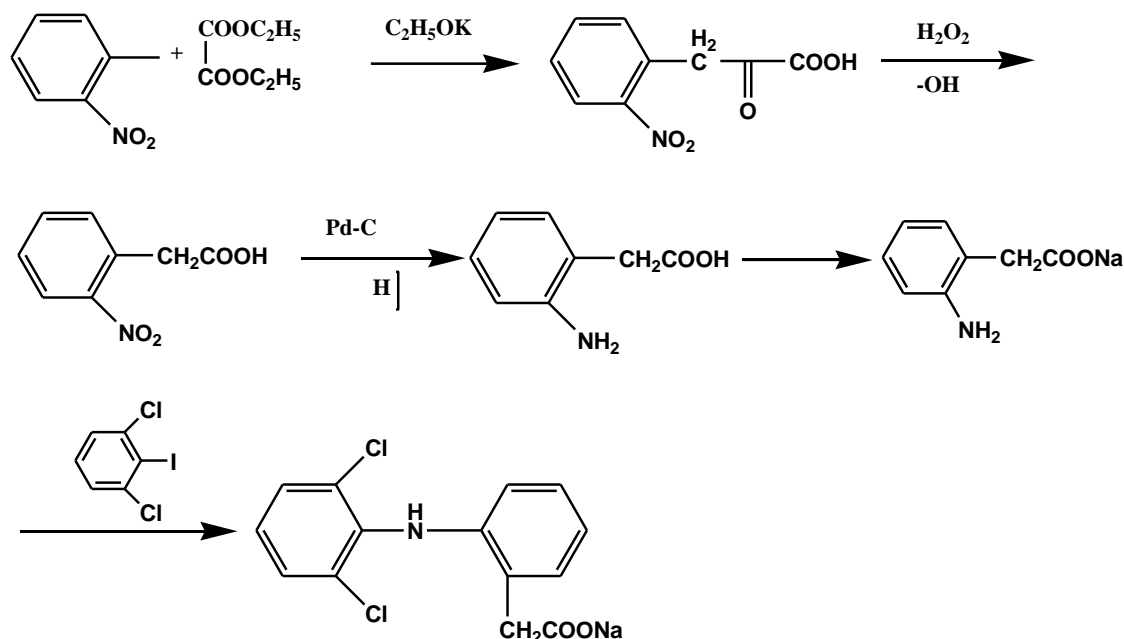


Figure I.4 : Addition de methyl-2-nitrobenzene sur le diéthyle oxalate en milieu basique

Le tétracyclocyclohexanone obtenu à partir de la chloration de cyclohexanone en position α de la fonction carbonyle réagit avec l'aniline en présence de 2-chloroacetylchloride, conduit à la formation de Diclofénac de sodium [7] . Comme montre la figure (I.5) suivante :

Etude Bibliographique

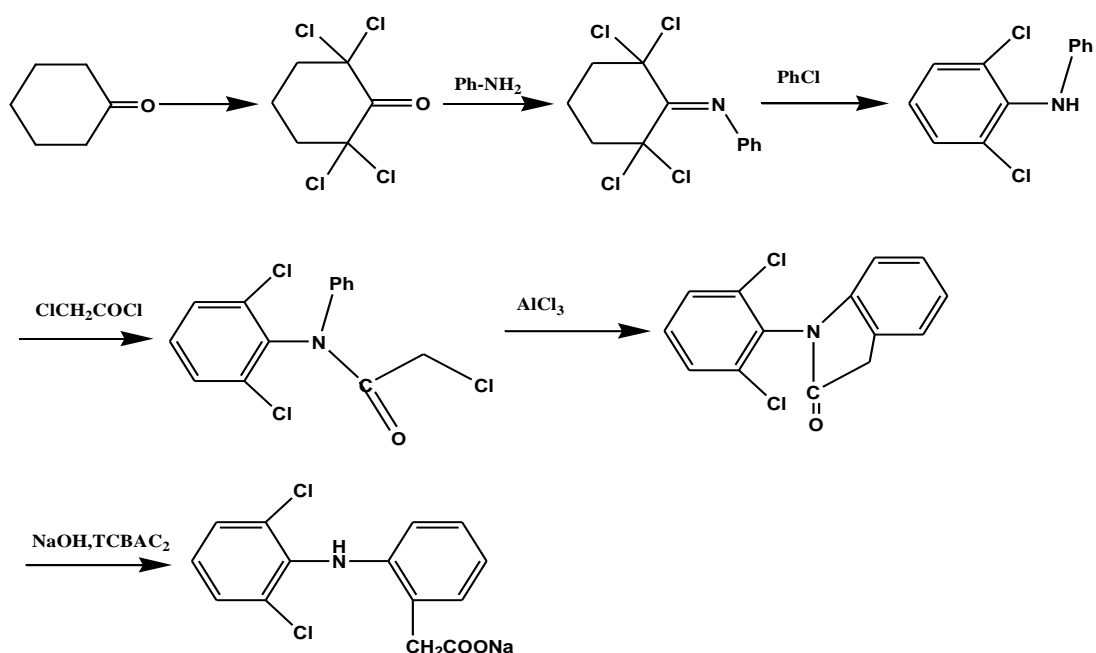


Figure I.5 : Conversion de tétrachlorocyclohexanone en Diclofénac sodique

En utilisant l'aniline comme réactif de départ, l'intermédiaire (2,6-dichlorodiphénylamine) a été synthétisé suivant plusieurs étapes réactionnelles : chloroacylation, condensation et réarrangement [8].

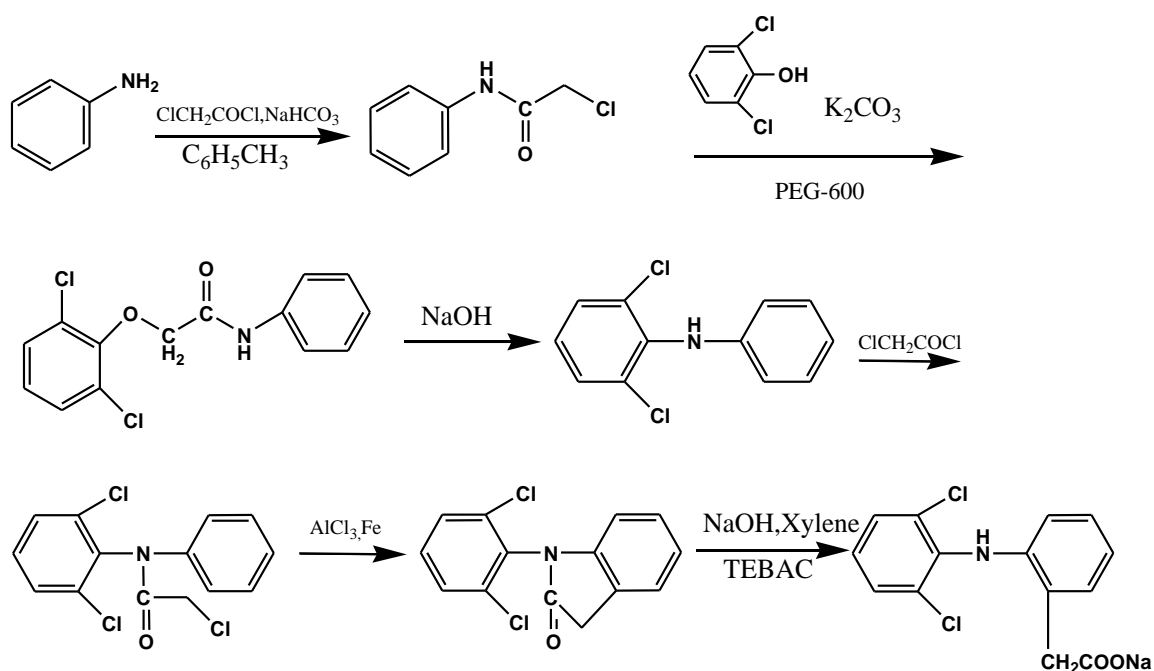


Figure I.6 : Synthèse de Diclofénac sodique à partir de l'aniline

Etude Bibliographique

I.2.2 Présentation du médicament

Dans notre travail, nous avons choisi le médicament **BIOFENAC**, nom commercial de Diclofénac sodique, fabriqué par la boîte pharmaceutique de **BIOPHARM** sous forme de comprimés de 50mg, 75mg et 100mg, comme montre la figure (I.7) ci-dessous.

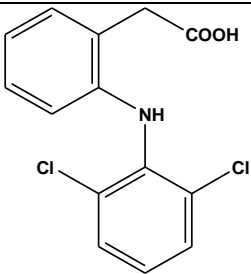
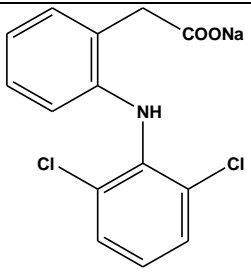


Figure I.7 : Formes commerciales du médicament Biofenac

I.2.3 Propriétés physico-chimiques

Ce tableau résume les propriétés physicochimiques du Diclofénac sodique :

Tableau I.1 : Les propriétés physico-chimiques de Diclofénac sodique

	Diclofénac	Diclofénac de sodium
Formule	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	$C_{14}H_{10}Cl_2NO_2Na$
Nomenclature	Acide 2-[2-(2,6-dichlorophényl)aminophényl]éthanoïque	[2-[(2,6-dichlorophényl)amino]phényl]acétate de sodium
Formules développées		
Classe chimique	Acide arylcarboxylique	Sel
Usage	Médicament anti-inflammatoire non stéroïdiens	
Masse molaire	296.15 g/mol	318.13g/mol
Point de fusion	156 à 158°C	283 à 297°C
Solubilité	Assez soluble dans l'eau, facilement soluble dans le méthanol.	

I.3 Techniques d'analyses utilisées

I.3.1 La spectrophotométrie d'absorption UV-Visible

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 la méthode la plus commune des laboratoires et la technique la plus courante de contrôle et d'analyse de composés chimique .C'est une méthode quantitative et qualitative présentant plusieurs applications, 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 chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en phase liquide haute performance sont indisponibles. Elle s'avère donc être une méthode particulièrement économique. D'autre part, il est rapporté dans plusieurs bibliographiques 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 [9] .



Figure I.8 : Spectrophotomètre UV-Visible de marque KLAB

I.3.1.1 Principe de la spectroscopie UV-visible

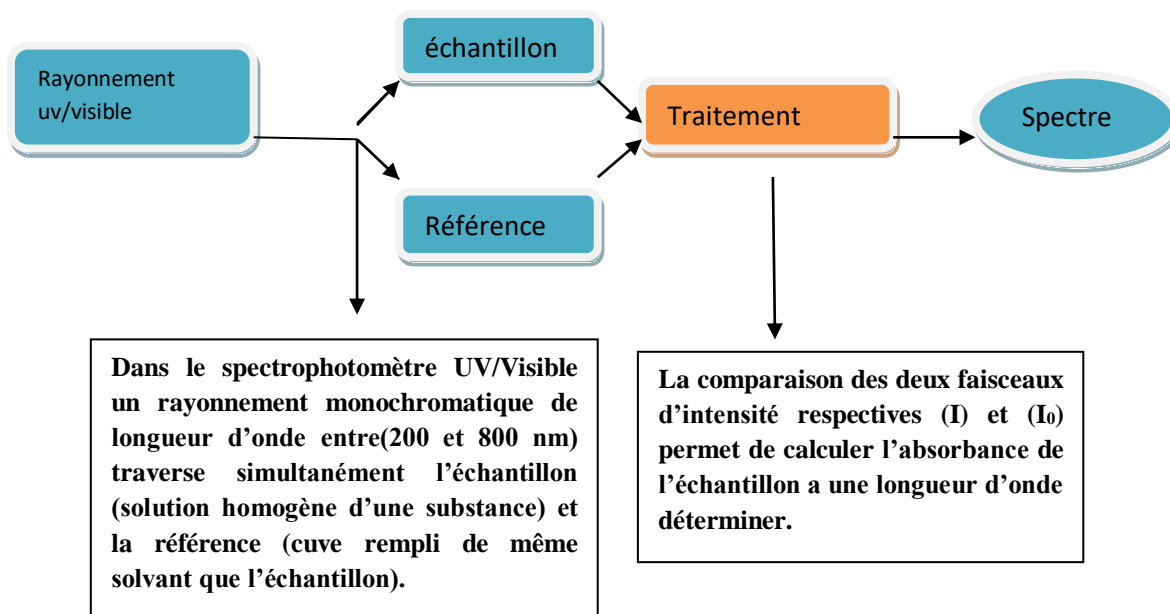


Schéma 1 : Principe de la spectroscopie UV visible [10]

I .3.1.2 Fonctionnement d'un spectrophotomètre UV-Visible

Une source polychromatique (émettant dans l'UV ou visible) est placée devant un prisme. Ce système dispersif va décomposer le rayonnement poly chromatique émis par la source. En orientant correctement le système diaphragme-échantillon-photo détecteur, la solution contenue dans la cuve sera irradiée avec un rayonnement quasi monochromatique. L'échantillon est constitué de l'édifice à étudié, dissous dans un solvant et contenu dans une cuve. Il faut donc que le solvant et la cuve n'interfèrent pas dans les données mesurées. Ainsi on les choisira transparents dans le domaine choisi, il existe différentes cuves adaptées aux différents domaines spectraux rencontrés (plastique pour le visible, quartz de plus ou moins bonne qualité pour l'UV). Pour ce qui est du solvant, son influence est neutralisée en réalisant un blanc [11].

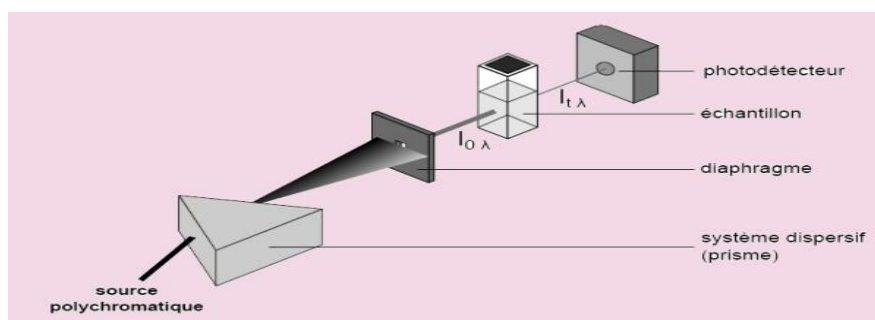


Figure I.10 : Fonctionnement d'un spectrophotomètre

UV-Visible [12]

Expérimentalement, l'appareil extrait comme donnée brute l'intensité $I_{t,\lambda}$, obtenue après traversée de la solution. Celle-ci étant dépendante de la source, on préfère calculer deux grandeurs dérivées : l'absorbance A et la transmittance T .

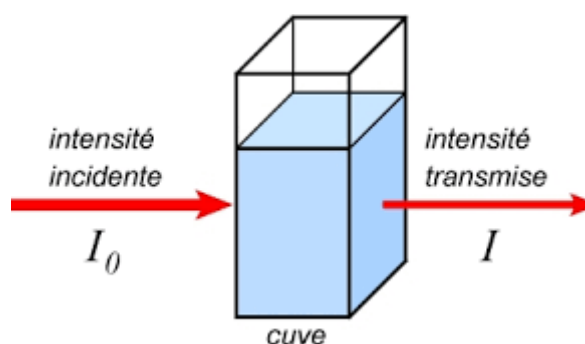


Figure I.11 : Cellule [13]

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 B er-Lambert.

I.3.1.3 Les conditions d'utilisation de la spectrophotométrie UV/Visible

La substance à analyser doit être dissoute dans un solvant convenablement choisi, ce dernier ne doit pas absorber dans la même région  tudi e. [14]

La solution doit être plac e dans une cellule convenable, transparente à la lumière dans la bande de fréquences  tudi es.

I.3.1.4 Loi de béer-Lambert et son domaine d'application [15]

Cette loi est utilisée pour de nombreux dosages d'espèces chimiques colorés. Pour des composés incolores, il est parfois possible de fabriquer des complexes colorés. Cette loi n'est valable que pour les **faibles concentrations** et en général pour des absorbances inférieures à 1. Toutefois, ceci va dépendre du soluté étudié et de la qualité du spectrophotomètre. Les appareils les plus récents acceptent des absorbances beaucoup plus élevées. Pour s'assurer que la loi est vérifiée dans le domaine d'étude choisi, il suffit de tracer l'absorbance en fonction de la concentration. La loi de Béer-Lambert est applicable dans la partie linéaire du tracé.

Une radiation monochromatique de longueur d'onde fixe traversant un échantillon d'épaisseur l , l'absorbance vérifie la **loi de béer-Lambert** soit :

$$A = \epsilon.l.c$$

A : Absorbance

ϵ : Coefficient d'absorption molaire exprimé en $L.mol^{-1}.cm^{-1}$

l : Largeur de cuve exprimé en cm.

C : Concentration molaire de la solution exprimée en $mol.L^{-1}$

I.3.2 Spectroscopie Infrarouge [16]

La spectroscopie infrarouge (parfois désignée comme spectroscopie IR) est une méthode d'analyse précise, et couramment utilisée par les chimistes, elle permet de déterminer les groupements fonctionnels. Dans cette méthode, une molécule est composée d'atomes reliés entre eux par des liaisons covalentes qui sont comparées à un ressort, lorsqu'un faisceau de lumière atteint une molécule, celle-ci absorbe cette radiation, ce qui cause la variation de cet assemblage, entraînent ainsi la modification des distances interatomique et des angles normaux des liaisons elle recouvre une large gamme de techniques, la plus commune étant un type de spectroscopie d'absorption. Comme pour toutes les techniques de spectroscopie, elle peut être employée pour l'identification de composés ou pour déterminer la composition d'un échantillon.

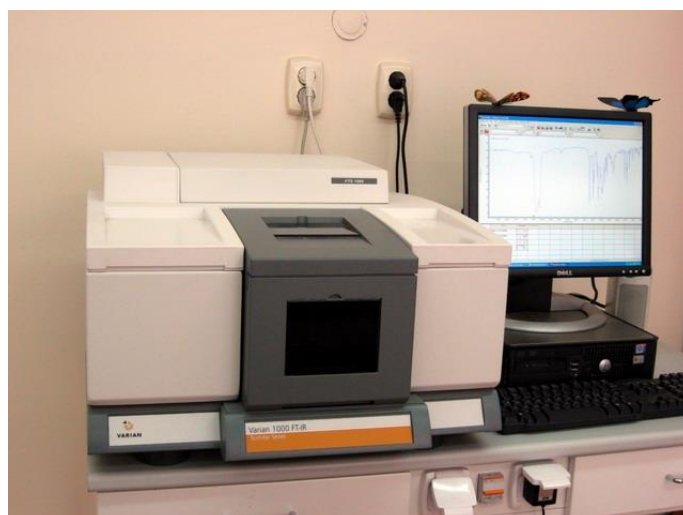


Figure I.12 : Spectrophotomètre IR [17]

I.3.2.1 Domaines d'application de la spectroscopie infrarouge

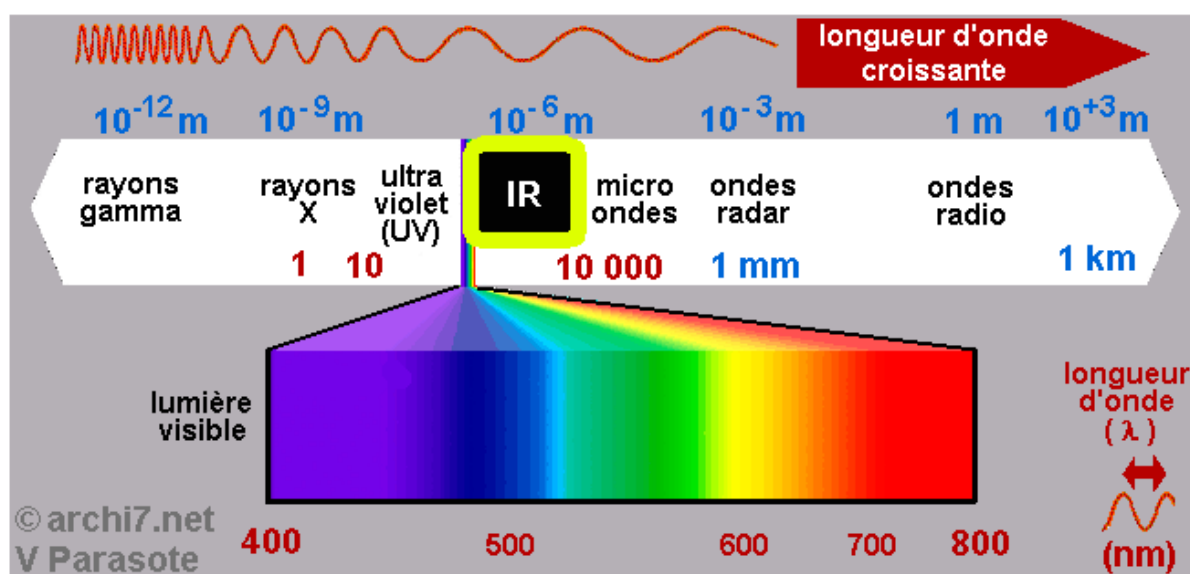


Figure I.13 : Domaines d'application d'IR [18]

I.3.2.2 Principe de la spectroscopie IR

Le principe de la spectroscopie infrarouge (IR) repose sur l'absorption de la lumière par la plupart des molécules dans la région de l'infrarouge du spectre électromagnétique et en convertissant cette absorption en vibration moléculaire. Cette absorption correspond spécifiquement aux liaisons présentes dans la molécule. Avec un spectromètre, cette absorption du rayonnement infrarouge par le matériau de l'échantillon est mesurée en fonction de la longueur d'onde (sous la forme de nombres d'onde, typiquement de 4000 à 600 cm^{-1}).

Le résultat est un spectre qui donne une "empreinte chimique" distinctive qui peut être utilisée pour visualiser et identifier des échantillons organiques et inorganiques. [19] Dans la plupart des applications de l'infrarouge, on cherche soit à produire de l'énergie thermique, soit à mesurer ou à détecter un rayonnement. En effet, tous les corps rayonnent de l'énergie selon une loi qui dépend de leur température.

L'application la plus connue est le chauffage domestique à infrarouge utilisant le gaz ou l'électricité pour porter à température élevée un matériau qui rayonne [20]

I.3.2.3 Principale partie d'un spectrophotomètre IR

Il est composé des éléments suivants :



Figure I.14 : Principales parties d'un spectrophotomètre IR

I.3.2.4 Les différents types de spectroscopes [21]

Il existe principalement deux types de spectroscopes IR

❖ Spectroscopie IR traditionnelle

Dans les spectroscopes traditionnels, Une source émet une série de radiations dans le domaine IR, un monochromateur sélectionne la longueur d'onde, l'onde est dédoublée pour aller d'une part au détecteur (I°) et d'autre part traverse la cellule contenant l'échantillon, puis allant au détecteur (I).Le rapport (I/I°) est calculé, le monochromateur fait varier la longueur d'onde. Un graphe est alors émis, le graphe représente la transmission $T=I/I^\circ$ en fonction de nombre d'onde.

❖ Spectroscopie IR à transformée de fourier

Dans les spectres IR à transformée de fourier, ce n'est pas par un balayage d'une onde monochromatique que ce construit le spectre mais un paquet d'onde contenant les ondes de domaine IR est émis, c'est par analyse de fourier que les signaux sont séparés et interprétés en un spectre représentant la transmission $T=I/I^\circ$ en fonction de nombre d'onde.

I.3.3 Spectroscopie de masse [22]

La spectrométrie de masse est une technique analytique très puissante et très sensible permettant d'analyser des composés organiques solides, liquides ou gazeux. Elle permet de déterminer la masse moléculaire, de corrélérer le spectre d'un composé avec sa structure et d'expliquer des mécanismes de ruptures de liaisons. Par spectrométrie de masse, on peut réaliser des analyses qualitatives et quantitatives.



Figure I.15 : spectromètre de masse [23]

I.3.3.1 Le principe de la spectroscopie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leur identification et leur quantification. Elle est fondée sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation ou dans une chambre de collision.

I.3.3.2 Appareillage [24]

Un spectromètre de masse est constitué au minimum :

- d'un système d'introduction de l'échantillon.
- d'une source d'ions ou chambre d'ionisation.
- d'un analyseur qui sépare les ions en fonction de leur masse et de leur charge.
- d'un détecteur qui détecte les ions sortant de l'analyseur.
- d'un système d'enregistrement qui nous donne le spectre.

I.3.4 La résonance magnétique nucléaire « RMN » [25]

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique analytique utilisée pour déterminer la structure moléculaire et la composition chimique d'un échantillon. Il fonctionne en analysant l'interaction des noyaux en rotation dans un champ magnétique puissant. En spectroscopie RMN, un champ magnétique externe stationnaire amène certains noyaux d'une molécule à absorber des radiofréquences sélectives. L'énergie absorbée induit une transition de spins nucléaires, qui s'observe sur un spectre RMN.

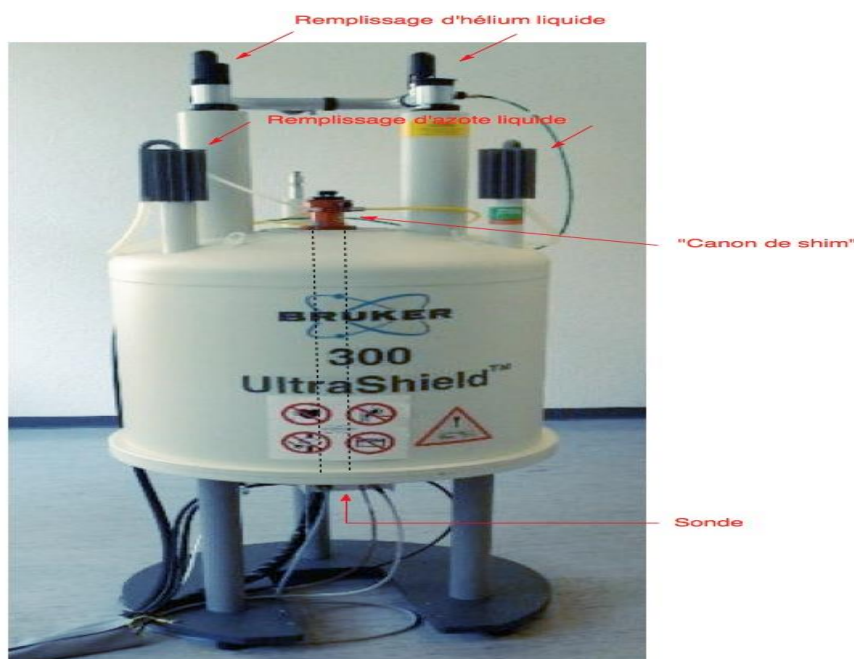


Figure I.16 : Spectromètre RMN [26]

I.3.4.1 Principe de la spectroscopie RMN

La RMN est une méthode spectroscopique d'analyse de la matière, fondée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. L'échantillon à étudier, placé dans un champ magnétique très intense, acquiert une aimantation nucléaire qui est détectée par sa mise en résonance avec un champ électromagnétique. [27]

I.3.4.2 Applications de la spectroscopie RMN [28]

La spectroscopie RMN est une technique non destructive et non invasive utilisée pour déterminer la structure et la dynamique moléculaires. Les applications de la RMN sont diverses et comprennent les domaines de recherche et les industries suivants :

Etude Bibliographique

- ❖ En biologie, la RMN est appliquée pour étudier les macromolécules, telles que les protéines, les lipides et les acides nucléiques. ^{13}C , ^1H , ^{15}N , ^{31}P , ^{23}Na et ^{19}F sont les noyaux actifs RMN les plus pertinents sur le plan biologique, utilisés pour comprendre les voies biochimiques impliquées dans le métabolisme des acides aminés, des lipides et des glucides.
- ❖ En chimie, il est largement utilisé pour les analyses qualitatives et quantitatives afin de surveiller les réactions, d'identifier les structures et d'évaluer la pureté.
- ❖ Dans l'industrie pharmaceutique, pour déterminer la pureté et la quantité d'ingrédients actifs, d'excipients et d'impuretés dans les produits pharmaceutiques
- ❖ Dans l'industrie pétrolière, pour évaluer les hydrocarbures du pétrole brut et de ses produits.
- ❖ En médecine, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une application de la RMN utilisée pour l'analyse des tissus mous afin d'identifier les tissus endommagés ou malades.

Chapitre II

Méthodes et matériels

Chapitre II : matériels et méthodes

II.1 comprimés




II.1.1 Caractère

L'aspect des comprimés ont été vérifié à l'œil nu (contrôle visuel), ce contrôle est réalisé pour vérifier la forme, la couleur et l'aspect.

II.1.2 Aspect

Les 3 doses de biofenac 50,75 et 100mg ne présentent aucune cassure ou taches, et donc conforme aux normes. Les résultats sont regroupés dans la tableau suivant :

Tableau II.1 : Aspect des comprimés biofenac 50,75 et 100mg.

biofenac	Aspect de comprimés	forme	Couleur
50mg		Pelliculé rond	Orange foncé
75mg		Pelliculé rond	Jaune orangé
100mg		Pelliculé rond	Jaune orangé

II.1.3 Essai

II.1.3.1 Uniformité de masse

Les tests d'uniformité de masse sont réalisés sur 10 comprimés prélevés au hasard dans la préparation, contrôlé et pesés à l'aide d'une balance.



Figure II.1 : balance électronique

❖ Masse des comprimés de biofenac 50,75 et 100mg

Tableau II.2 : Masses de chaque comprimé de biofenac 50mg,75mg et 100mg.

Comprimés de 50 mg		Comprimés de 75 mg		Comprimés de 100 mg	
Comprimé 1	0.1543	Comprimé 1	0.2076	Comprimé 1	0.2695
Comprimé 2	0.1604	Comprimé 2	0.1990	Comprimé 2	0.2718
Comprimé 3	0.1620	Comprimé 3	0.2011	Comprimé 3	0.2622
Comprimé 4	0.1583	Comprimé 4	0.2026	Comprimé 4	0.2615
Comprimé 5	0.1585	Comprimé 5	0.2015	Comprimé 5	0.2703
Comprimé 6	0.1561	Comprimé 6	0.2074	Comprimé 6	0.2620
Comprimé 7	0.1622	Comprimé 7	0.2057	Comprimé 7	0.2685
Comprimé 8	0.1588	Comprimé 8	0.2065	Comprimé 8	0.2701
Comprimé 9	0.1590	Comprimé 9	0.1989	Comprimé 9	0.2725
Comprimé 10	0.1580	Comprimé 10	0.2042	Comprimé 10	0.2722

A partir de ces masses on a calculé la masse moyenne des comprimés pour chaque dose de biofenac.

Matériels et méthodes

II.1.3.2 Masse moyenne

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau (II.3) suivant :

Tableau II.3 : Masse moyenne de 10 comprimés de 50,75 et 100mg

Biofenac	Masse de 10 comprimés (mg)	Masse moyenne (mg)	L'intervalle d'exigence ($\pm 5\%$)	Conclusion
50mg	1.5876	0.1587	[0.1087 – 0.2087]	Conforme
75mg	2.0345	0.2034	[0.1534 – 0.2534]	conforme
100mg	2.6806	0.2680	[0.2180 – 0.3180]	Conforme

Toutes les masses des comprimés sont inclus dans les différentes intervalles d'exigences donc sont uniformes.

II.2 Les tests de solubilité

Plusieurs tests de solubilité sont réalisés pour déterminer le solvant qui convient :

❖ **Test avec HCl :**

Dans un Erlenmeyer de 100mL, on a introduit une masse $m=0.1543g$ de biofenac 50 mg, on a dissous cette quantité dans 5mL de HCl, puis on a ajouté l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'un volume de 50mL, après 15min d'agitation.

❖ **Test avec acide nitrique :**

Dans un erlenmeyer de 100mL, on a introduit une masse $m=0.1585g$ de biofenac 50 mg, cette dernière est dissoute dans 5mL de l'acide nitrique, puis on a ajouté l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'un volume de 50mL.

❖ **Test avec le méthanol :**

Dans un erlenmeyer de 100mL, on a introduit une masse $m=0.1561g$ de biofenac 50 mg, on a dissous cette quantité dans 5ml de méthanol, puis on a ajouté l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'un volume de 50mL.

❖ **Test avec acétate d'éthyle :**

Dans un erlenmeyer de 100mL, on a introduit une masse $m=0.1588 g$ de biofenac 50 mg, on a dissous cette quantité dans 5mL d'acétate d'éthyle, puis on a ajouté l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'un volume de 50mL.

❖ Test avec NaOH :

Dans un erlenmeyer de 100mL, on a introduit une masse $m=0.1590$ g de biofenac 50 mg, on a dissous cette quantité dans 50 mL de NaOH de concentration 0,1 mol/L.

Dans le tableau présenté ci-dessous (II.7) on a résumé toutes les observations des tests de solubilités effectués .

Les résultats des tests de solubilité sont regroupés dans le tableau (II.4) ci-dessous :

Tableau II.4 : Tests de solubilité.

Solvant	Observation
HCl	Solution transparente troublee
Acide nitrique	Solution marron foncé gélifiée
Méthanol	Solution rose clair troublee
Acétate d'éthyle	Solution transparente limpide
NaOH	Solution transparente claire

- D'après les observations des différentes tests effectués on a décidé de choisir le NaOH comme solvant pour solubiliser notre médicament.

La figure (II.2) ci-dessous représente nos tests de solubilité .

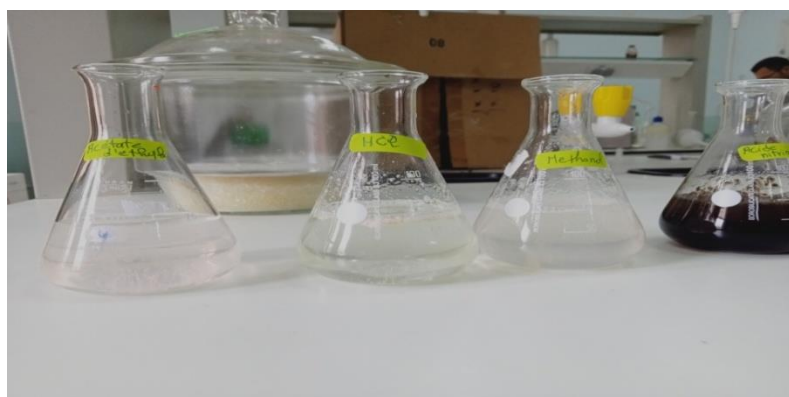


Figure II.2: Test de solubilité

II.3 Préparation des solutions de NaOH à différentes concentrations

❖ Pour 0.1mol/L :

On introduit 1.9g de NaOH dans une fiole jaugée de 500 mL remplie au préalable à moitié avec de l'eau distillée. Une agitation est appliquée jusqu'à la dissolution totale, puis compléter jusqu'au trait de jauge.

$$C=m/M.V$$

$$C=1.9/39.98*0.5$$

$$C=0.1\text{mol/L}$$

❖ Pour 0.5mol/L :

On introduit 9.995g de NaOH dans une fiole jaugée de 500 mL remplie au préalable à moitié avec de l'eau distillée. Une agitation est appliquée jusqu'à dissolution totale, puis compléter jusqu'au trait de jauge.

$$C=m/M.V$$

$$C=9.995/39.98*0.5$$

$$C=0.5\text{mol/L}$$

❖ Pour 1mol/L :

On introduit 19.899 g de NaOH dans une fiole jaugée de 500 mL remplie au préalable à moitié avec de l'eau distillée. Une agitation est appliquée jusqu'à dissolution totale, puis compléter jusqu'au trait de jauge.

$$C=m/M.V$$

$$C=19.9/39.98*0.5$$

$$C=0.1\text{mol/L}$$

II.4 Préparation de la solution du principe actif

On introduit 0.021 g du principe actif dans une fiole jaugée de 50 mL, remplie au préalable à moitié avec une solution de NaOH (0.5mol/L). Une agitation magnétique pendant 10 minutes est appliquée jusqu'à dissolution totale, puis compléter jusqu'au trait de jauge.

Cette solution mère est diluée pour obtenir des solutions filles à différentes concentrations.



Figure II.3 : principe actif



Figure II.4 : solution de PA sous l'agitation magnétique

II.5 Préparation de la solution mère de biofenac 50mg à différentes concentrations de NaOH

Dans un mortier, trois comprimés ont été broyés, à l'aide d'une balance électronique on a pesé les trois comprimés, $m_1=0.1603\text{g}$ / $m_2=0.1612\text{g}$ / $m_3=0.1608\text{g}$, chaque masse est dissoute dans 100mL de NaOH à différentes concentrations 0.1, 0.5 et 1mol/L. A l'aide d'un agitateur magnétique on a soumis notre mélange à une agitation pendant 10min, ensuite on a filtré ce mélange avec une pompe à vide. Plusieurs solutions filles ont été obtenues.

II.6 Préparation de la solution de biofenac 75mg à différentes concentrations de NaOH

On a pesé trois comprimés de biofenac 75 mg ($m_1=0.2011$ / $m_2=0.2015\text{g}$ / $m_3=0.2026\text{g}$) on a pris ($m_1'=0.1005\text{g}/m_2'=0.1007\text{g}/m_3'=0.1013\text{g}$), ces masses ont été transféré dans trois fioles de 100mL de concentration NaOH différente 0,1, 0,5 et 1 mol/L. Une agitation pendant 10min est appliquée suivi d'une filtration.

II.7 Préparation de la solution de biofenac 100mg à différentes concentrations de NaOH

Trois masses de biofenac 100 mg ont été préparé $m_1'=0.0873\text{g}$, $m_2'=0.0871\text{g}$ et $m_3'=0.0876\text{g}$, ces masses ont été transféré dans trois fioles de 100mL de concentration NaOH différente 0,1, 0,5 et 1 mol/L. Une agitation pendant 10min est appliquée suivi d'une filtration.



Figure II.5 : Solutions dilués

- Toutes les solutions préparées ont été étudié par spectroscopie UV-Visible à une longueur d'onde $\lambda=270$ nm (on a choisie cette longueur d'onde a partir du spectre d'absorption donné par l'appareil UV VISIBLE) .

Chapitre III

Résultats et discussions

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1 Caractérisation du Diclofénac par les différentes techniques d'analyse

III.1.1 Spectroscopie Infrarouge

Nous avons procédé à l'examen et l'indexation des bandes d'absorptions présentées sur les spectres IRTF de Diclofénac sodique (principe actif), de 50mg, de 75mg et de 100mg présentés respectivement ci-dessous:

❖ Principe actif

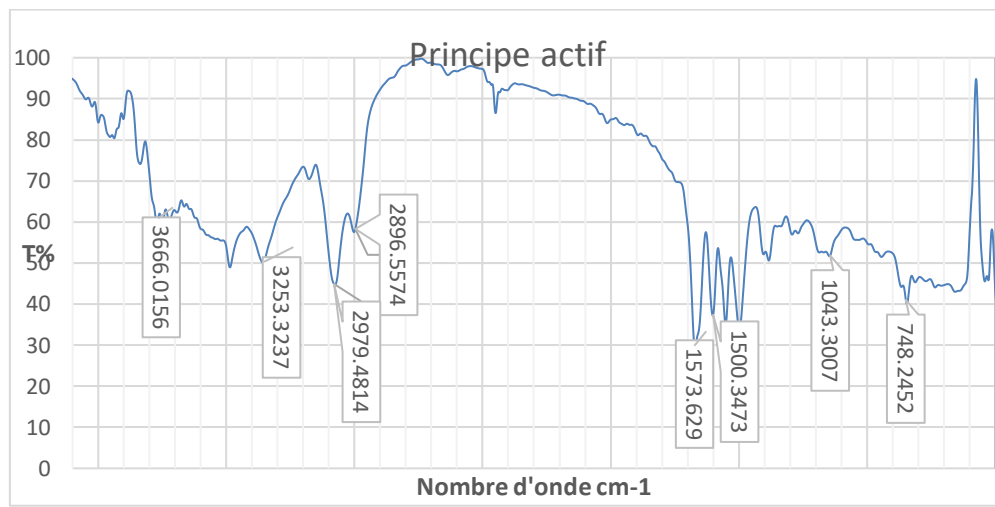


Figure III.1 : Spectre IR du principe actif

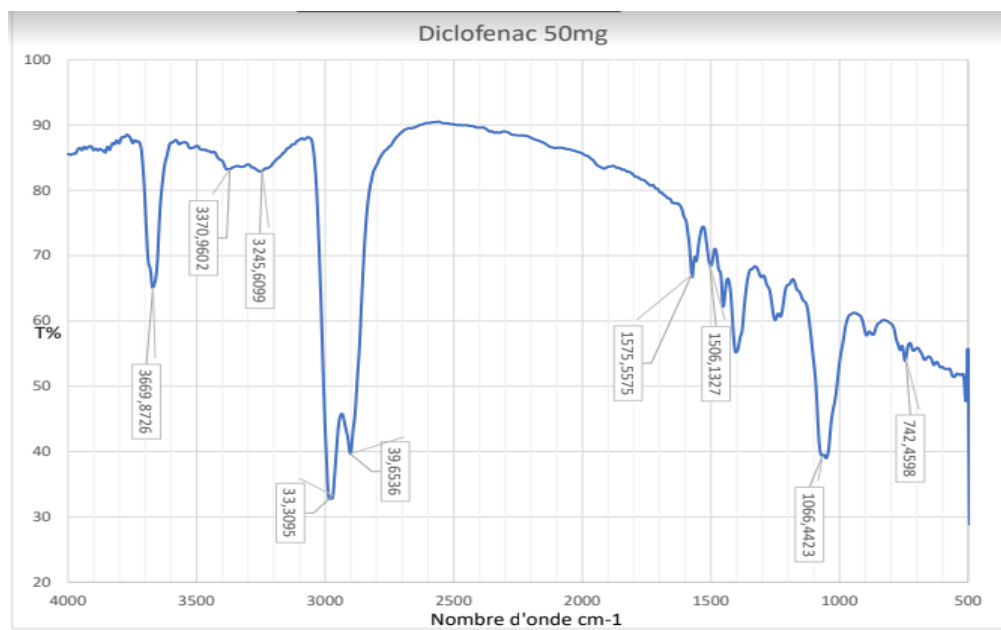


Figure III.2 : Spectre IR du biofenac 50 mg

Résultats et discussions

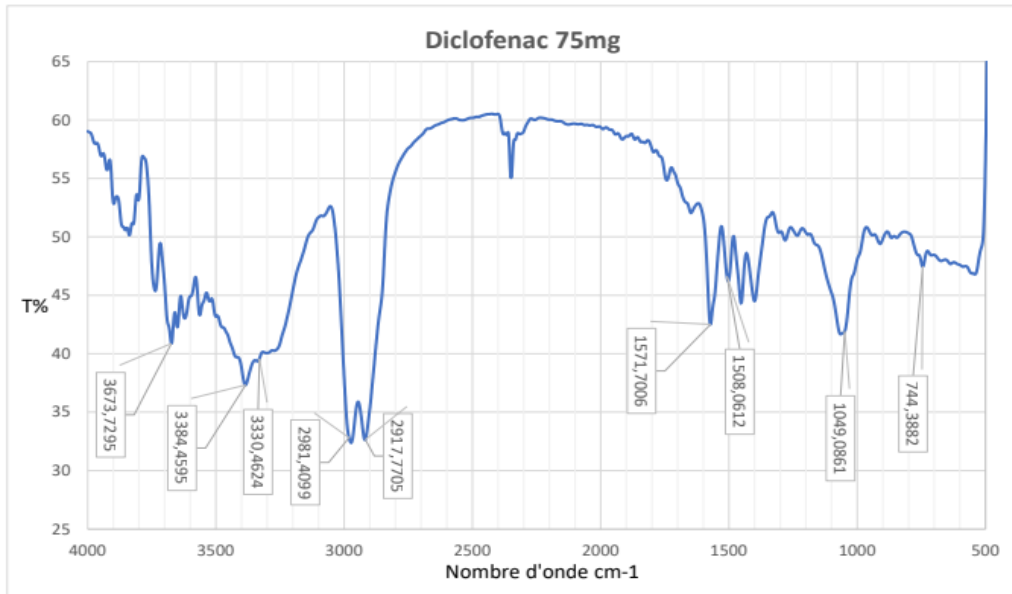


Figure III.3 : Spectre IR du biofenac 75 mg

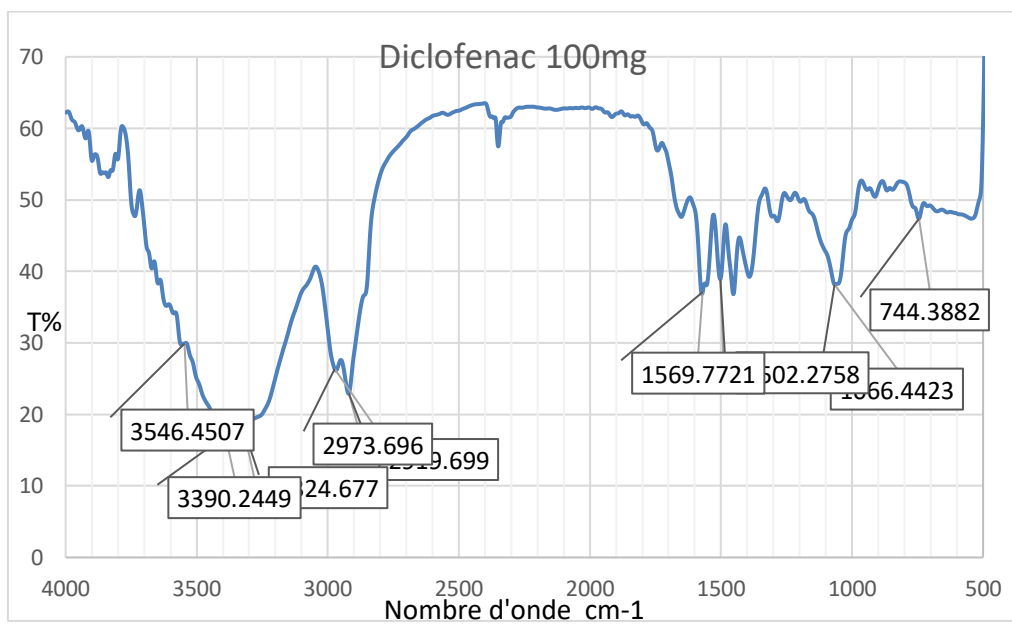


Figure III.4 : Spectre infrarouge du biofenac 100 mg.

Résultats et discussions

- A partir de la superposition des spectres représentés ci-dessus on obtient le spectre suivant :
Sachant que :

- La couleur vert claire : principe actif
- La couleur bleu : biofenac 50mg
- La couleur rouge : biofenac 75mg
- La couleur vert foncé : biofenac 100mg

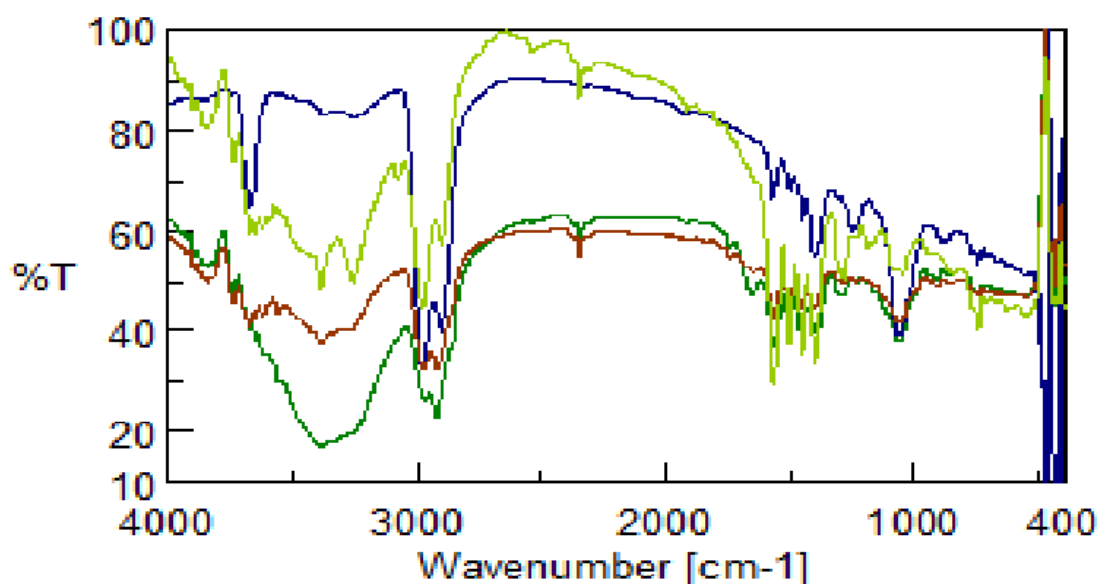


Figure III.5 : superposition des 4 spectres IR (50mg/75mg/100mg).

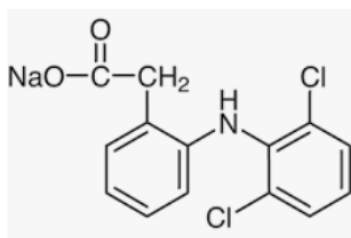


Figure III.6 : La structure du Diclofénac sodique

Après l'analyse de ces spectres on cite les différents groupements caractéristiques de la molécule du Diclofénac sodique.

- Les groupements CH des cycles aromatiques forment deux bandes à 2899 et 2981 cm^{-1} .

Résultats et discussions

- Les molécules d'H₂O et le groupement OH se caractérisent à environ 3666 cm⁻¹.
- Les groupements (C=C) des cycles aromatiques vibrent à 1574 cm⁻¹ forme d'un pic.
- Le groupement amine secondaire de Diclofénac, apparaissent sous forme de deux bandes situées dans l'intervalle 3253 et 3384 cm⁻¹.
- La bande d'absorption de vibration à 1500 cm⁻¹ correspond aux groupements-COO.
- La bande de vibration de groupement OH forme une bande située vers 1034 cm⁻¹.
- La bande observée à environ 748 correspond à la vibration de valence des deux groupes C-Cl.

III.1.2 Spectroscopie RMN du proton

L'analyse du Diclofénac sodique par spectroscopie RMN a donné le spectre représenté dans la figure (III.7).

Le spectre RMN du proton est en accord avec le nombre total de protons de la molécule de Diclofénac de sodium, on comptabilise 10 protons au total sur le spectre proton et la molécule. On observe un pic d'intensité un proton vers les champs faibles à environ 10 ppm qui correspond au proton d'azote. On observe quatre signaux qui correspondent aux sept protons des deux cycles aromatiques, entre 6,2 et 7.5 ppm, d'intensité 1, 1, 1, 2, 2 protons d'intégration doublet, triplet, triplet, et quadruplet respectivement, ces signaux sont caractéristiques à des groupements aromatiques. Vers les champs forts à 3.4 ppm, on a la présence d'un signal singlet qui correspond au groupement CH₂ de la molécule de Diclofénac de sodium. Le solvant utilisé est le DMSO.

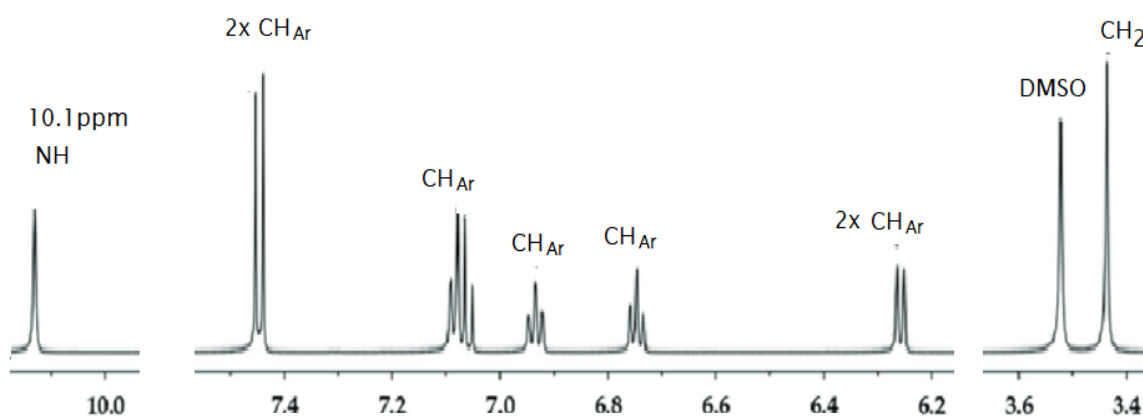


Figure III.7 : Spectre RMN du Diclofénac sodique

III.1.3 Spectroscopie de masse

Le Diclofénac a été étudié en spectrométrie de masse en mode d'ionisation par impact électronique à 70eV. On observe sur le spectre le pic de l'ion moléculaire M^+ $m/z = 295$. L'étude de spectre a montré une homogénéité dans la majorité des fragmentations avec la bibliographie, bien que le profil d'intensité des ions varie.

Le spectre montre les pics de masse $m/z = 295$, $m/z = 278$, $m/z = 242$, $m/z = 214$ et $m/z = 179$ attribuable respectivement à la perte de radical HO \cdot , suivie d'une éjection d'une molécule HCl, une élimination de CO et la perte du radical Cl \cdot .

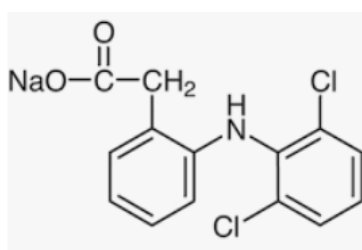


FIGURE III.8 : la structure (a)

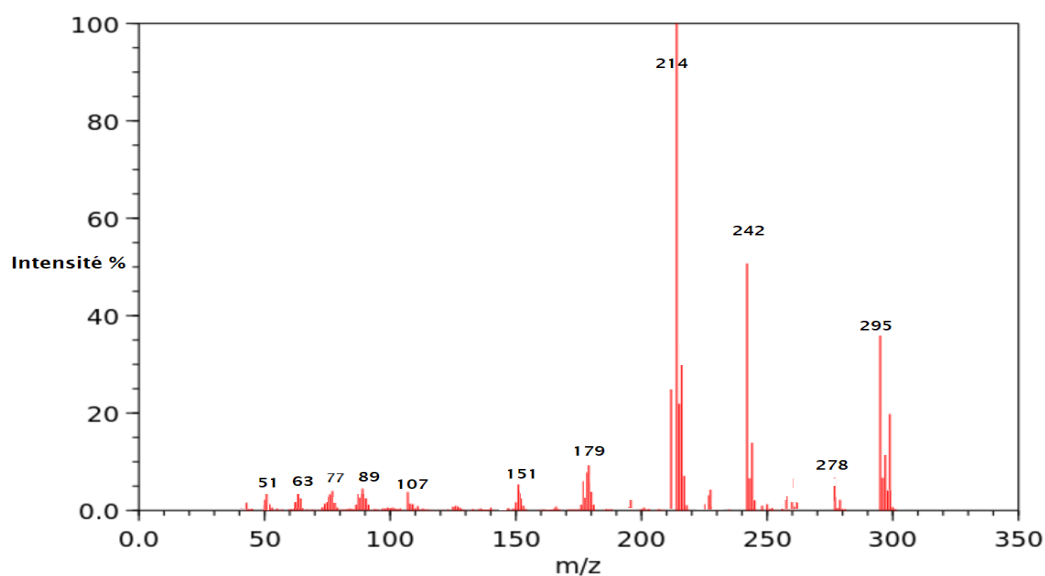


Figure III.9 : Spectre de masse du Diclofénac

III.1.3.1 Mécanisme de fragmentation

Cette figure (III.10) représente les différentes fragmentations de la molécule du DS après le bombardement de la molécule par 70eV.

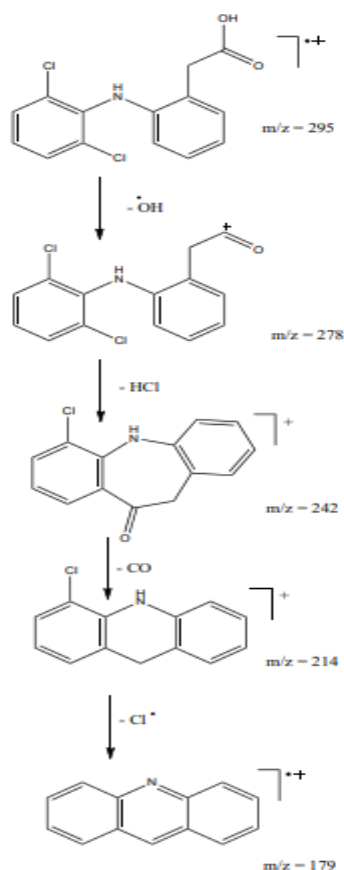


Figure III.10 : mécanisme de fragmentation

III.1.4 L'analyse avec l'UV visible

III.1.4.1 Spectre UV-visible du Diclofénac sodique

Nous avons effectué un balayage de longueur d'onde de 200 à 400 nm. L'allure du spectre d'absorption, $A = f(\lambda)$ obtenu est représenté ci-dessous.

Le Diclofénac sodique présente une bande d'absorption maximale à 270nm, donc il a été décidé de travailler à cette longueur d'onde.

Cette valeur est en accord avec celle reportée dans la bibliographie.

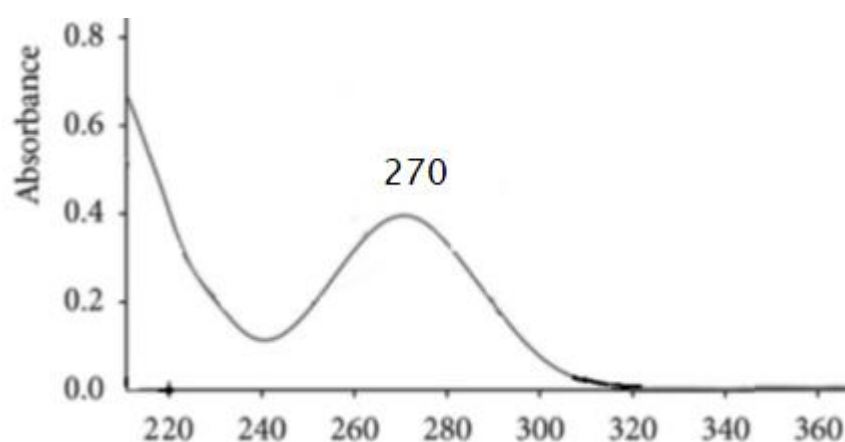


Figure III.11 : Spectre d'absorption du DS [29]

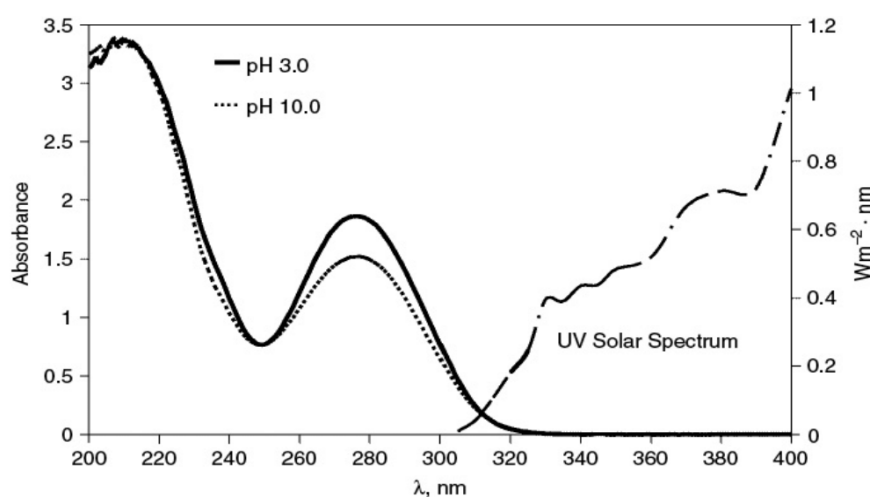


Figure III.12 : spectre d'absorption de Diclofénac sodique en milieu aquatique [30]

III.1.4.2 Détermination des courbes d'étalonnage

Les courbes d'étalonnage du Diclofénac sodique ont été obtenues en utilisant des solutions de concentrations inférieures à 100mg/L à pH basique. Les données expérimentales, reportées sur les figures ci-dessous, indiquent une relation linéaire entre l'absorbance et la concentration. Les droites montrent bien une bonne linéarité avec un coefficient de régression R^2 proche de l'unité égale à 0,9997, ce qui montre que la loi de Bér-Lambert est bien vérifiée.

Résultats et discussions

Pour le dosage du Diclofénac sodique dans des formulations pharmaceutiques par UV-Visible, nous avons procédé à la quantification de Diclofénac sodique en milieu basique de NaOH. Dans ce travail, différentes formulations du médicament et différentes concentrations de NaOH ont été utilisés de ce médicament, nous avons procédé à des essais de solubilité du principe actif de Diclofénac, biofenac 50 mg, biofenac 75mg et biofenac 100mg pour différentes concentrations 0.1mol/l, 0.5mol/l et 1mol/l de NaOH..

Le tableau suivant représente les résultats obtenus de l'analyse de biofenac 50mg à différentes concentrations de NaOH :

Tableau III.1 : Absorbances de biofenac 50mg à différentes concentrations de NaOH

Concentrations mol/l	Absorbance à 0.1 mol/l	Absorbance à 0.5 mol/l	Absorbance à 1 mol/l
0	0	0	0
2.12×10^{-5}	0.286	0.306	0.528
4.09×10^{-5}	0.552	0.501	1.3156
8.28×10^{-5}	0.771	1.052	1.8299
1.13×10^{-4}	1.164	1.3925	2.324
1.7×10^{-4}	1.4126	2.03	2.906

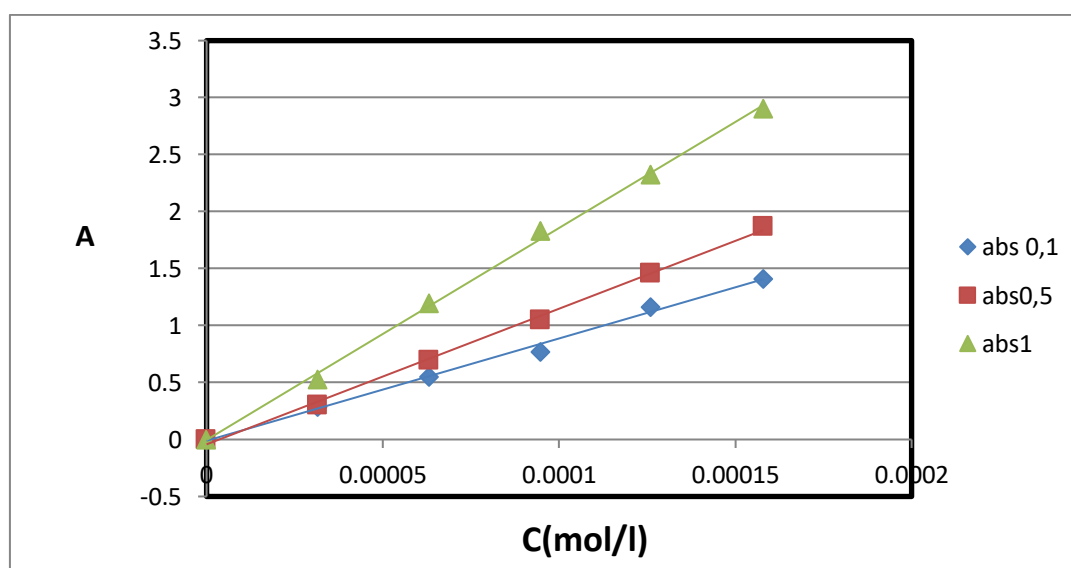


Figure III.13 : Courbes d'étalonnage du biofenac 50mg à différentes concentrations de NaOH

Résultats et discussions

Le tableau suivant représente les résultats obtenus de l'analyse de biofenac 75mg à différentes concentrations de NaOH :

Tableau III.2 : Absorbances du biofenac 75mg à différentes concentrations de NaOH

Concentration(mol/l)	Absorbance à 0.1 mol/l	Absorbance à 0.5 mol/l	Absorbance à 1 mol/l
0	0	0	0
2.36×10^{-5}	0.1025	0.19	0.336
4.72×10^{-5}	0.2569	0.4111	0.532
7.08×10^{-5}	0.3683	0.6159	0.702
9.44×10^{-5}	0.566	0.8089	0.905
1.18×10^{-4}	0.8056	1.026	1.109
1.41×10^{-4}	0.9068	1.2563	1.358

A partir de ces résultats on a tracé les courbes d'étalonnages représenté sur la figure suivante :

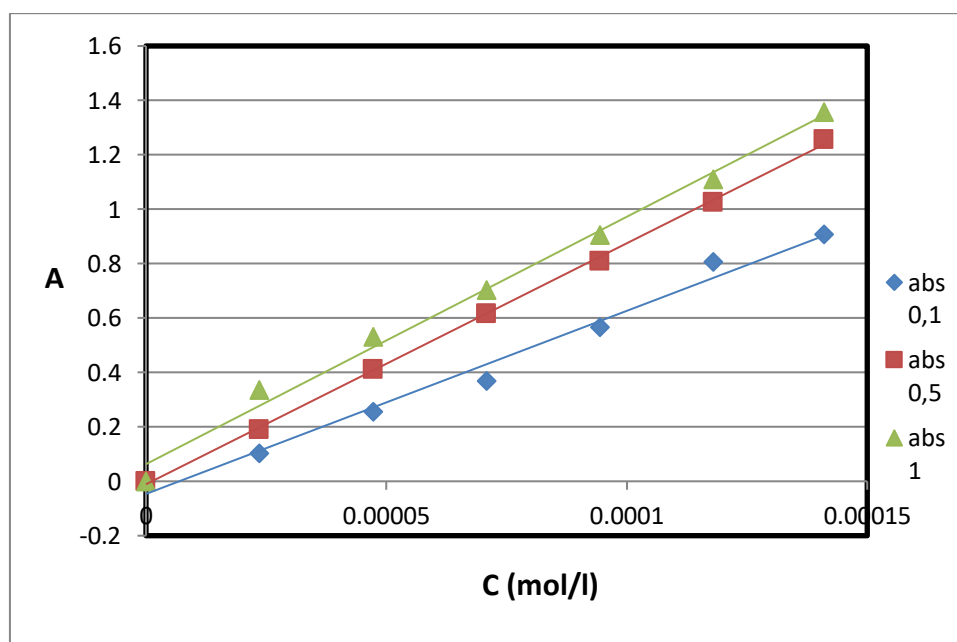


Figure III.14: Courbes d'étalonnage du biofenac 75mg à différentes concentrations de NaOH

Résultats et discussions

Le tableau suivant représente les résultats obtenus de l'analyse de biofenac 100mg à différentes concentrations de NaOH :

Tableau III.3 : Absorbances du biofenac 100mg à différentes concentrations de NaOH

Concentrations (mol/l)	L'absorbance à 0.1 mol/l	L'absorbance à 0.5mol/l	L'absorbance à 1mol/l
0	0	0	0
2.1×10^{-5}	0.1585	0.2109	0.3306
4.2×10^{-5}	0.3327	0.4111	0.5456
6.3×10^{-5}	0.5478	0.581	0.7598
8.4×10^{-5}	0.6159	0.7573	0.9917
1.05×10^{-4}	0.8083	0.9682	1.3095
1.26×10^{-4}	1.0298	1.136	1.493
1.47×10^{-4}	1.2404	1.3689	1.6997

A partir des résultats obtenus ci-dessus on a tracé des différentes courbes d'étalonnages représenté dans cette figure (III.15) :

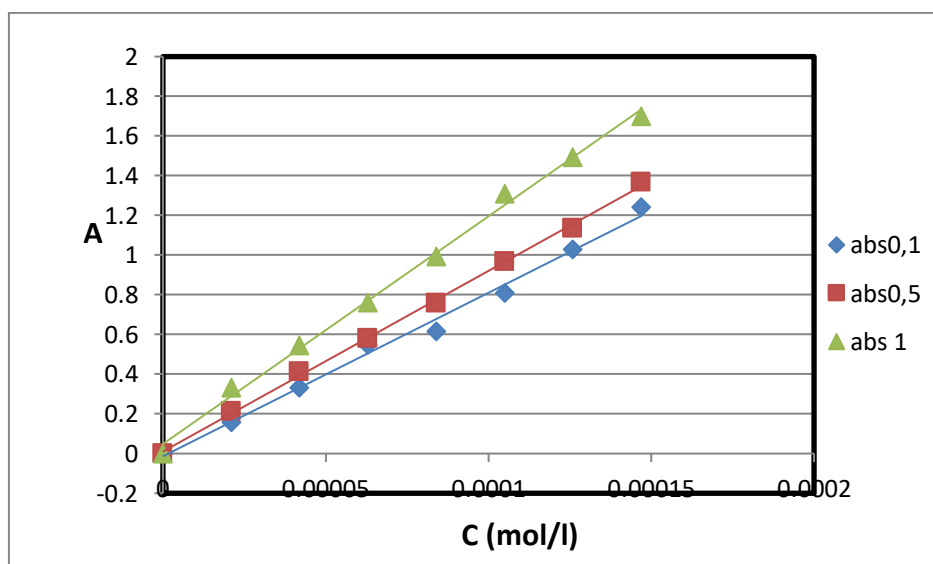


Figure III.15: Courbes d'étalonnage du biofenac 100mg à différentes concentrations de Na OH

Résultats et discussions

III.1.4.3 Le choix de la concentration nécessaire de NaOH

La loi de Béer-Lambert est applicable lorsque le coefficient de corrélation est proche de l'unité.

Après le calcul des coefficients de corrélations à partir des courbes d'étalonnages à différentes concentrations de NaOH présentés ci-dessus (figure III.13), on peut déduire que la meilleure concentration de NaOH pour le dosage du Diclofénac par rapport à la valeur du coefficient de corrélation, la plus grande, des trois formes du biofenac est 0,5 mol/L avec le R^2 égale à 0,998, 0,999 et 0,998 pour 50mg, 75mg et 100mg successivement. (Figure (III.16) ci-dessous).

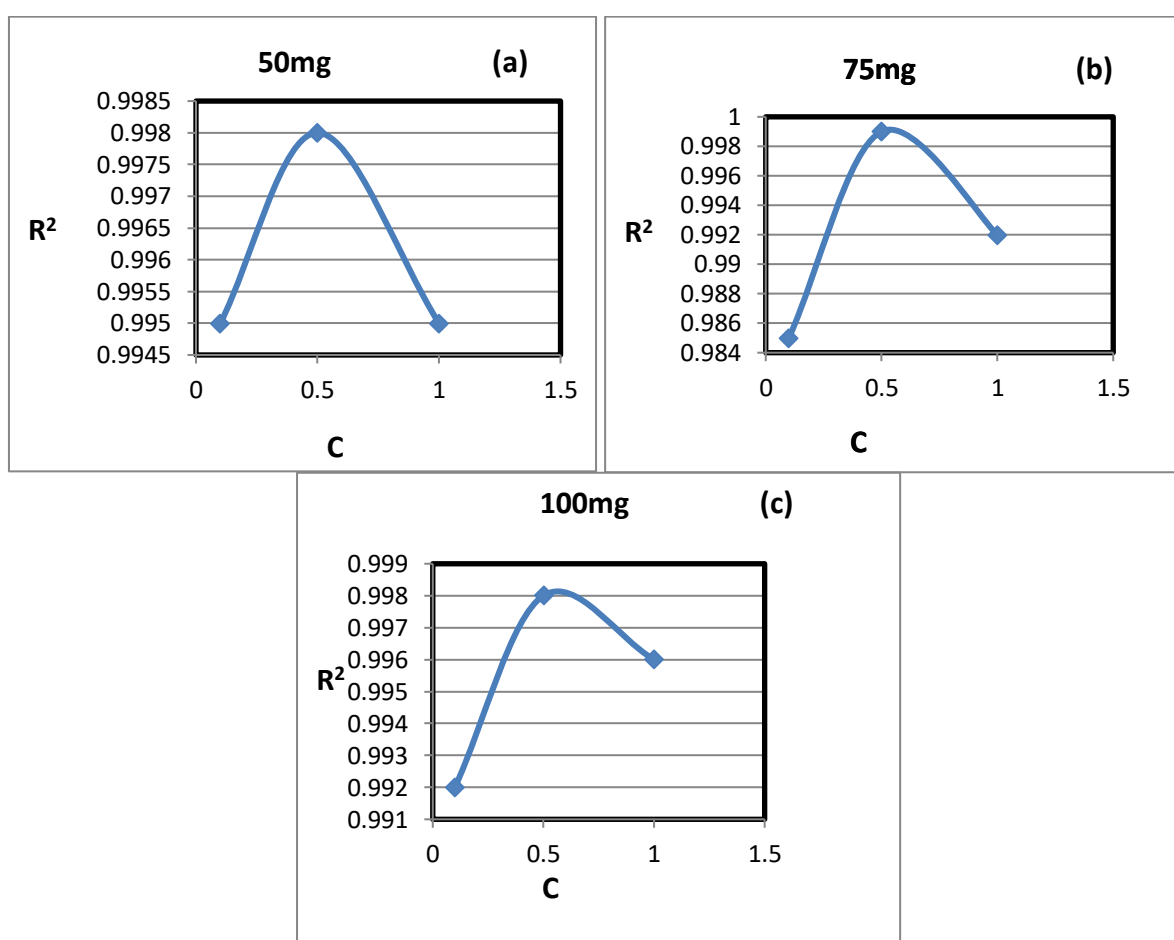


Figure III.16 : Courbes de la concentration en fonction du coefficient de corrélation des 3 formes de biofenac. (a,b et c)

- A partir de ces résultats on remarque que à 0.5 mol/l de NaOH le coefficient de corrélation est proche de 1 donc on a décidé de faire notre dosage a cette

Résultats et discussions

concentration, on a tracé les courbes d'étalonnages des différentes formulations du médicament (50mg , 75mg et 100mg) à 0.5 mol/l de NaOH .

III.1.4.4 Interprétation des résultats obtenus des trois formes de biofenac (50mg, 75mg et 100mg) à 0.5mol/l de NaOH

La figure (III.17) ci-dessous représente les courbes d'étalonnages des 3 formes de biofenac à 0.5 mol/l de NaOH

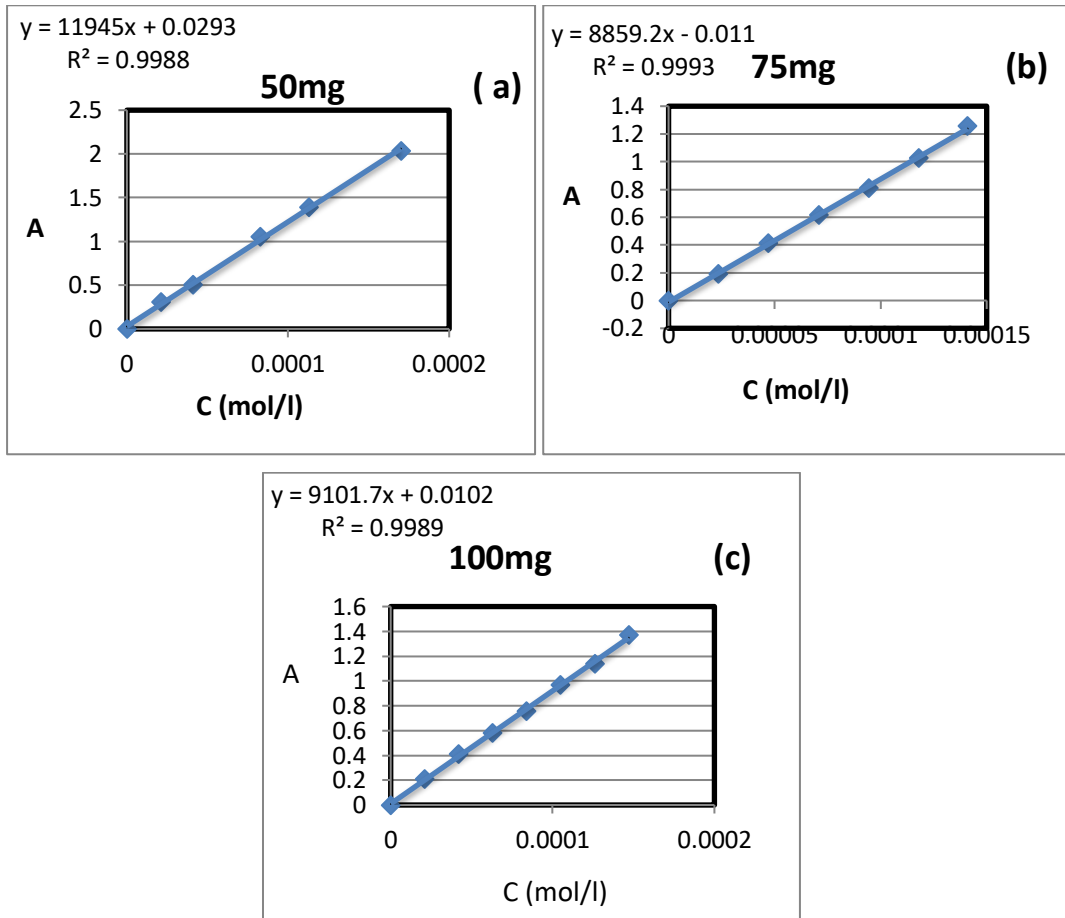


Figure III.17 : l'absorbance en fonction de la concentration à 0.5mol/l (a,b et c)

Les 3 courbes d'étalonnages sont des droites linéaires, A et C sont proportionnelles et les concentrations obtenues dans les 3 formes (50mg, 75mg et 100mg) sont inférieures à 10^{-2} alors la loi de Beer Lambert est applicable :

- Biofenac 50mg, un domaine de concentration de 0 à 1.7×10^{-3} mol/L avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,998$ et $Y = 11945x + 0.029$

Résultats et discussions

- Biofenac 75 mg, un domaine de concentration de 0 à $1,41 \times 10^{-3}$ mol/L avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,999$ et $Y = 8859x - 0,011$
- Biofenac 100mg, un domaine de concentration de 0 à $1,47 \times 10^{-3}$ mol/L avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,989$ et $Y = 9101x + 0,010$

III.1.4.5 courbe d'étalonnage (principe actif) à 0.5mol/L de NaOH

Tableau III.4 : résultats obtenus d'analyses de PA a 0.5mol/L

La concentration (mol/l)	L'absorbance
0	0
3.16×10^{-5}	0.2945
6.32×10^{-5}	0.6168
9.48×10^{-5}	0.9299
1.26×10^{-4}	1.2111
1.58×10^{-4}	1.4246
1.89×10^{-4}	1.817
2.21×10^{-4}	2.1031

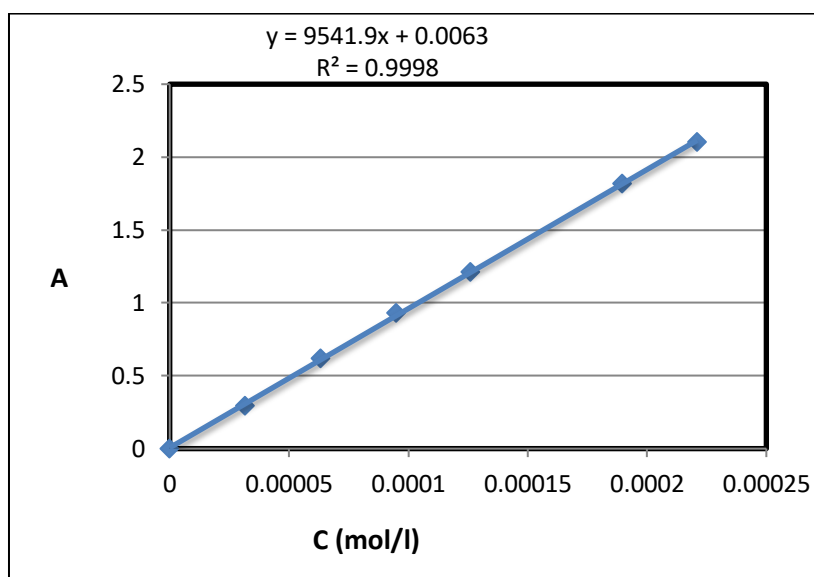


Figure III.18 : Courbe d'étalonnage de PA à 0.5 mol/L

- Le graphe $A=f(C)$ est une droite linéaire où A et C sont proportionnelles et les concentrations sont inférieures à 10^{-2} mol/L, alors on peut dire qu'au domaine de

Résultats et discussions

concentrations allant de 0 à 2.520×10^{-4} mol/L, la loi de Beer Lambert est vérifiée avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.999$.

III.2 Critères de validation analytique

Les étapes de développement et de validation des méthodes d'analyses dépendent du type de procédé en cours de développement. Les principaux critères de validation sont ceux couramment utilisés dans les laboratoires d'analyses et dont la nécessité de l'étude a fait l'objet d'un large consensus. Ces critères sont les suivants :

- la linéarité
- la spécificité
- l'exactitude
- la fidélité
- La justesse

III.2.1 Validation de la méthode du dosage du Diclofénac dans le comprimé

III.2.1.1 La linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité à prédire des concentrations retrouvées proportionnelles aux concentrations théoriques d'une série d'échantillons [30].

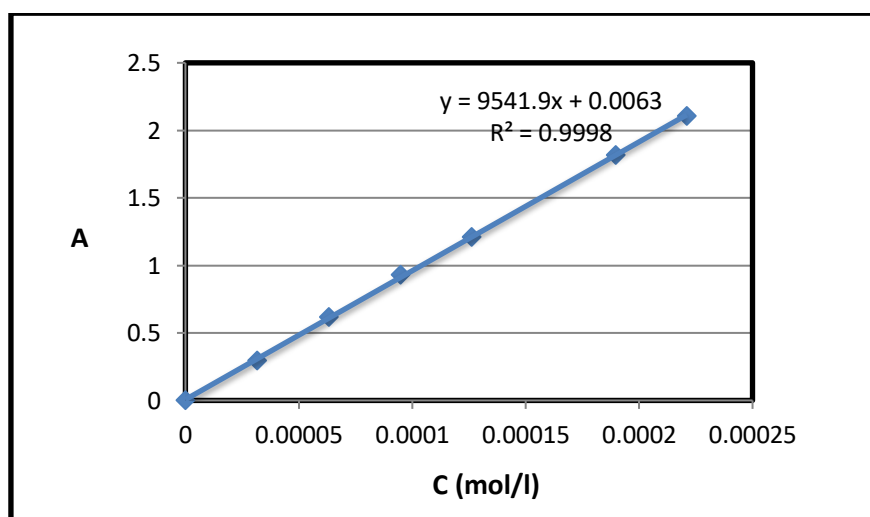


Figure III.19 : La droite de la linéarité

❖ Détermination de la droite de régression et calcul de ses paramètres

La première étape consiste à déterminer, en utilisant la méthode des moindres carrés, la droite de régression ajustée au plus près des mesures effectuées. Celle-ci aura pour fonction:

$$y = a x + b$$

Résultats et discussions

Pour vérifier la linéarité de la méthode, le coefficient de corrélation, la pente moyenne et l'ordonnée à l'origine ont été déterminés pour les essais de Diclofénac. Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.4 : paramètres de la linéarité

Domaine de linéarité	$0 - 2,21 \times 10^{-4}$
La pente	9541
L'ordonnée à l'origine	0.006
Coefficient de corrélation	0.999

A.N :

$$\text{La pente} = (2,1031 - 0,2945) / (0,000221 - 0,0000316) = 9541$$

Le coefficient de corrélation ($R^2 = 0,999$) voisin de l'unité suggère une excellente linéarité de la réponse du spectrophotomètre dans la gamme de concentration choisie.

III.2.1.2 La spécificité

Une procédure d'analyse est dite « spécifique » lorsqu'elle permet de garantir que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser. Il s'agit de démontrer que la substance quantifiée au sein de la matrice est bien spécifique [31].

La spécificité peut être démontrée par la comparaison de la droite obtenue avec les standards de validation avec celle obtenue à partir des standards d'étalonnage [32].

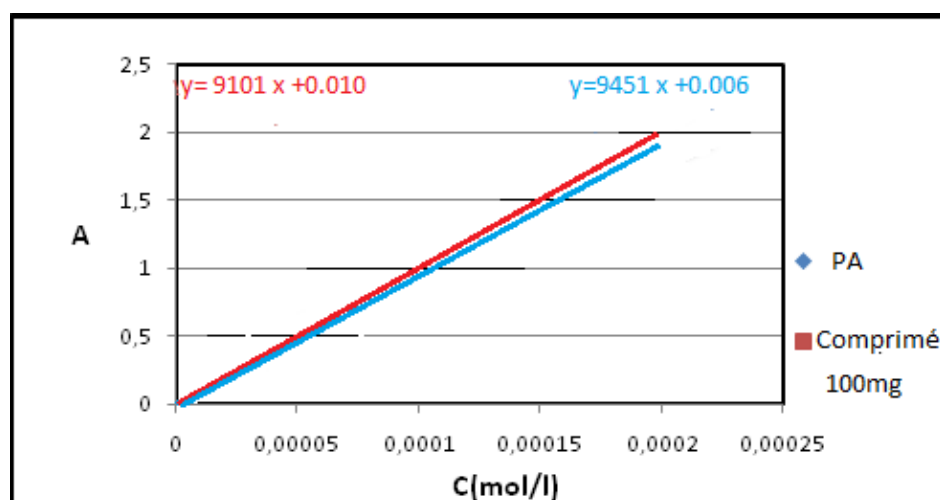


Figure III.20 : Spécificité de la méthode de dosage de Diclofénac.

Résultats et discussions

D'après la figure III.20, nous remarquons que les deux droites sont presque superposables ce qui veut dire qu'il n'y a pas d'interférence d'excipients ($R^2 = 0,998$). La méthode utilisée est bien spécifique.

III.2.1.3 L'exactitude

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre le résultat et la valeur de référence acceptée, aussi appelée « valeur vraie ». L'étroitesse de l'accord ainsi observée est la résultante de la somme des erreurs systématique et aléatoire, en d'autres termes l'erreur totale liée aux résultats. Par conséquent, l'exactitude est l'expression de la combinaison de la justesse et la fidélité [33] .

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.

Le tableau ci-dessous (tableau III.6) résume l'ensemble des résultats trouvés de l'exactitude.

Tableau III. 6: Résumé des données d'exactitude

Absorbances	Concentrations introduites($\mu\text{g/ml}$)	Concentrations retrouvées ($\mu\text{g/ml}$)	Recouvrement (%)
0.294	10.04	10.15	101.09
0.616	20.09	20.58	102.43
0.929	30.14	30.77	102.09
1.211	40.06	40.47	101.02
1.424	50.24	51.26	102.03
1.817	60.10	61.74	102.72
2.103	70.27	70.92	100.92
2.312	80.13	81.83	102.12

❖ Calcul du recouvrement :

La formule du taux de recouvrement est assez simple à calculer. Il s'agit du rapport en pourcentage entre les deux données.

Exemple :

$$\text{Recouvrement (\%)} = (10.15 \times 100) / 10.04 = 101.09 \%$$

Résultats et discussions

❖ L'intervalle de confiance :

L'intervalle de confiance IC calculé est égal à $101.80\% \pm 4,78$, qui peut être écrit sous la forme $[97.02 - 106.58]$. Le 100 % est compris dans l'intervalle de confiance, la méthode est donc exacte.

III.2.1.4 Fidélité [34]

La fidélité de la procédure d'analyse exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites. Pour prouver cette fidélité on valide deux autres critères qui sont :

❖ **La répétabilité** : La répétabilité correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dont au moins un des éléments suivants est différent : l'analyste, l'appareil et le jour.

❖ **La reproductibilité** : Elle correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans des laboratoires différents et dans les conditions suivantes : analyste différent, appareils différents, jour différent ou même jour

• Résultats expérimentaux

Tableau III.7 : résumé des données de la fidélité

jours	échantillons	C introduite ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance	Recouvrement %
Jour 1	1	10.04	0.294	101.12
			0.296	101.81
			0.292	100.44
	2	20.09	0.616	102.43
			0.613	101.95
			0.613	101.95
	3	30.14	0.929	102.09
			0.928	102.00
			0.926	101.78
Jour 2	1	10.04	0.289	101.12
			0.290	101.47
			0.288	100.78
	2	20.09	0.614	102.43
			0.614	102.45
			0.618	103.11
	3	30.14	0.930	102.09
			0.935	102.65
			0.934	102.54

Résultats et discussions

A partir de ces résultats on peut calculer les différents paramètres de la fidélité (l'écart type, la variance et le coefficient de variation.) qui sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III .8 : Calculs des paramètres de la fidélité.

	Equations	Répétabilité	Reproductibilité
Variance (S ²)	$S^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}$	0.46	0.23
Ecart type (S)	$S = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}$	0.67	0.47
CV %	$CV = S \times \frac{100}{\bar{X}}$	0.66	0.46

A.N :

1) La variance

- **Reproductibilité**

$$\bar{X} = (101,13 + 101,81 + 100,44 + 101,13 + 101,47 + 100,78) / 6$$

$$\bar{X} = 101,125$$

$$S^2 = [(101,13 - 101,125)^2 + (101,81 - 101,125)^2 + (100,44 - 101,125)^2 + (101,13 - 101,125)^2 + (101,47 - 101,125)^2 + (100,78 - 101,125)^2] / 5$$

$$S^2 = 0,23$$

- **Répétabilité**

$$\bar{X} = (101,13 + 101,81 + 100,44) / 3$$

$$\bar{X} = 101,126$$

$$S^2 = [(101,13 - 101,126)^2 + (101,81 - 101,126)^2 + (100,44 - 101,126)^2] / 2$$

$$S^2 = 0,46$$

2) L'écart type

- **Reproductibilité :**

$$S = \sqrt{0,23}$$

$$S = 0,47$$

- **Répétabilité :**

$$S = \sqrt{0,46}$$

$$S = 0,67$$

- 3) **Coefficient de variation :**

- **Reproductibilité :**

$$cv\% = (0,47 / 101,125) \times 100$$

$$cv\% = 0,46\%$$

- **Répétabilité :**

$$cv\% = (0,67 / 101,126) \times 100$$

$$cv\% = 0,66\%$$

Sachant que :

S : la variance.

S² : l'écart type.

CV : coefficient de variation s'exprime en pourcentage.

X_i : i^{ème}, les valeurs obtenus.

\bar{X} : la moyenne de valeurs obtenues.

n : nombre d'essai

Les CV de répétabilité et de reproductibilité sont inférieurs à 2%, la méthode est donc fidèle.

III.2.1.5 L'erreur relative [35]

L'erreur relative est le quotient de l'erreur absolue à la valeur exacte.

$$\varepsilon_r = \frac{QX}{X_e}$$

$$\varepsilon_r = \frac{(X - X_e)}{X_e}$$

Comme il s'agit d'un nombre sans dimension (pas d'unité), on l'exprime généralement en pourcentage (%).

$$\varepsilon_r = \left[\frac{(X - X_e)}{X_e} \right] \times 100$$

AN :

$$\varepsilon_r = \left[\frac{(10,15 - 10,04)}{10,04} \right] \times 100$$

$$\varepsilon_r = 1,09\%$$

avec :

X: la valeur mesurée de la grandeur

X_e: la valeur théorique exacte de la même grandeur.

D'après les résultats l'erreur relative est égale à 1,09 %.

III.2.1.6 La justesse [36]

La justesse est l'aptitude de l'appareil a donné des résultats qui ne sont pas entachés d'erreurs.

La justesse = $100 - |\text{l'erreur relative}|$

AN :

La justesse = $100 - 1.09 = 98.91\%$

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude a été réalisée dans le but de développer une technique de dosage simple et moins coûteuse, d'identifier et de caractériser le Diclofénac sodique par les différentes techniques spectroscopiques UV-visible, IR, RMN et spectroscopie de masse.

Les spectres IR, RMN du proton et spectroscopie de masse ont permis de vérifier la structure et l'identité de Diclofénac.

L'acceptation d'une méthode analytique est décidée sur la base de calculs d'exactitude et l'estimation de sa fidélité au moyen de calculs des coefficients de variation, cette approche est basée sur des outils de diagnostic indispensable pour caractériser une méthode et la valider. Notre étude a permis de démontrer que la spectroscopie UV-Visible est une technique analytique fiable, spécifique, linéaire, exacte, et fidèle. Les résultats obtenus ont répondu à toutes les exigences et performance spécifique élaboré dans cette approche harmonisée ; ce qui atteste la validité de cette méthode et son aptitude à être utilisée et appliquée.

L'absorbance maximale a été mesurée à 270nm d'après les courbes d'étalonnages, la loi de Beer-Lambert est respectée à des concentrations inférieures à 10^{-2} mol/l de Diclofénac sodique, le coefficient de régression obtenus a été hautement significatifs ($R^2 = 0.999$).

On conclut, que la méthode est validée et peut être appliqué aux dosages du Diclofénac sodique.

Références Bibliographiques

- [1] : Greg . Peterson, E Magazine Pharmaceuticals in Our Water Supply Are Causing Bizarre Mutations to Wildlife. 2007.
- [2] :AMINE layer .. développement et validation d'une méthode de dosage de Diclofénac sodique par UV VISIBLE. université - Mohamed V SOUSSI .Rabat.2013]
- [3] : <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/diclofenac-6757.html> , visité le 15/03/2022
- [4] : zhang kun , liu yanjie. research progress of synthesis of diclofenac sodium.2018
- [5] : Lipsky, P.. Cyclooxygenas reseach: advance with clinical implacations. Emery P.Rheuma-tologyhighlights. 1997
- [6] :Feisheng, Q. antipyretic analgesic anti-inflammatory drugs diclofenac synthesis. pharmaceutical industry, 1979.
- [7] :Feisheng, Q.. antipyretic analgesic anti-inflammatory drugs diclofenac synthesis. pharmaceutical industry . 1989
- [8] : Fen, C., Jiangling, W., Sheng, G.C.. Study on the synthesis of diclofenac sodium. Chinese Journal of pharmaceutical industry. 1995
- [9] :. Inesse AISSANI. Développement et validation d'une nouvelle méthode du dosage d'un principe actif dans une forme pharmaceutique . Mémoire université de Bejaïa.2021
- [10] : Chantal Badre , thèse de doctorat, université Pierre et Marie Curie -Paris VI (2007)
- [11] : Diclofénac, in Martindale. The Extra Pharmacopoeia 31., Royal Pharmaceutical Society: London. p. 36-37 . Edition1996
- [12] : Francis Rouessac, Annick Rouessac.Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes 6eme édition .1970
- [13] : PJUNI, A. WS. RUTJES, and P. A. DIEPPE, Are selective COX 2 inhibitors superior to traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs. 2002.
- [14] :Yahiatene Djazia. Mise au point et validation d'une méthode de dosage de la Méthylprédnisolone par spectrophotométrie UV/Visible. mémoire université de bouira.2016
- [15] : J-M.Aiache, S.Aiache, R.Renoux, Initiation à la connaissance du médicament. 4ème édition.1986
- [16] :Michel. DALIBART, Laurent. SERVANT; Techniques de l'ingénieur : traite analyse et caractérisation. Bordeaux.2012
- [17]: Etienne. S, Laurent. D, Gaudry. E, Lagrange. P, Ledieu. J, Steinmetz. J, Les matériaux de A à Z, P 49, Edition "dunod", Paris, 2008
- [18]:M. Frauenkron, J.P. Melder, G. Ruider, R. Rossbacher, H. Höke, « Ethanolamines and Propanolamines ». Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 2002

- [19] : D. Naumann, C.P Shultz, D. Helm. What can infrared spectroscopy tell us about the structure and composition of intact bacteria cells ?.New-York. 1996
- [20] :J.S. Sanghera, F.H Kung, P.C. Pureza, V.Q Nguyen, R.E. Miklos, I.D.Aggarwal.Applied Optics. 1994
- [21] :W. Petrich, A. Staib, M. Otto, R.L. Somorjai, Vibrational Spectroscopy.2002
- [22]: Zubarev R.A. Electron-capture dissociation tandem mass spectrometry. Current Opinion in Biotechnology. 2004
- [23] :Alexandra Doré. Développement d'une méthode d'analyse par spectrométrie de masse du mode d'action des biguanides dans le traitement du cancer.université de montérial.2019
- [24] : <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/spectroscopies/quest-ce-que-la-spectrometrie-de-masse>, visité le 5/04/2022.
- [25] :<https://www.sigmaaldrich.com/FR/fr/applications/analytical-chemistry/nuclear-magnetic-resonance>, visité le 6/04/2022.
- [26] : D. Naumann, Infrared Spectroscopy in Microbiology, in Encyclopedia of Analytical Chemistry.Chichester.2000
- [27]:B. Dali Youcef, Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen .2009.
- [28]:<https://www.sigmaaldrich.com/DZ/fr/applications/analytical-chemistry/nuclear-magnetic-resonance> visité le 06/04/2022 .
- [29]:Martin Jiskra And Juliane Hollender, Fate of the pharmaceutical diclofénac in the aquatic environment. In Biogeochemistry and Pollutant Dynamics .2015
- [30]: Note for guidance on validation of analytical procedures: Text and methodology. Validation of Analytical Procedures.1995
- [31]:Health Sciences Authority. Guidance notes on analytical method validation. 2004
- [32] : Hubert P., Nguyen-Huu J.J., Boulanger B. et al.. Validation of quantitative analytical Procedures: harmonization of approaches. STP Pharma Pratiques. 2003
- [33] : les technologies de laboratoire, une démarche statistique de la validation analytique dans le domaine pharmaceutique.
- [34] :European Medicines Agency. validation of analytical procedures.1995
- [35] : Jérôme VIAL. Définition de la validation de méthode et outils associés. Laboratoire Environnement et Chimie Analytique de l'ESPCI.2000
- [36] : Roussel J.M. Existe t-il un guide universel pour la validation des méthodes d'analyse. juillet/août 2005.

Résumé :

Le Diclofénac sodique est une substance qui entre dans la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), dont l'utilisation est très fréquente. Il peut être considéré comme une substance pharmaceutique polluante fréquemment détecté dans les rejets d'eau. L'objectif de notre travail consiste à caractériser le Diclofénac sodique par les différentes techniques spectroscopiques (RMN, IR et spectroscopie de masse) et développer une technique de dosage simple et moins coûteuse .

Mots clés : Anti-inflammatoires, Environnement, Diclofénac sodique.

Abstract :

Diclofenac sodium is a non-steroidal anti-inflammatory drug commonly used worldwide. This pharmaceutical substance frequently detected in water discharge, can be considered pollutant when introduced artificially into an environment.

The objective of our work is to characterize Diclofenac sodium by various spectroscopic techniques (NMR, IR and mass spectroscopy) and to develop a simple and less expensive assay technique.

Keywords : Anti-inflammatory Drugs, Environment, Diclofenac sodium.

ملخص:

ديكلوفيناك الصوديوم هو مادة تنتمي إلى فئة العقاقير غير الستيرويدية المضادة للالتهابات ، والتي يعد استخدامها شائعاً جداً .

يمكن اعتبارها كمادة صيدلانية ملوثة يتم اكتشافها بشكل متكرر في تصريفات المياه. قمنا في عملنا بتطوير تقنية فحص بسيطة وأقل تكلفة وأيضاً توصيف من خلال تقنيات التحليل الطيفي المختلفة (الأشعة فوق البنفسجية المرئية ، الأشعة تحت الحمراء ، الرنين المغناطيسي النووي والتحليل الطيفي الشامل).