

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES

Département Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : chimie

Option : chimie organique appliquée

Présentés par :
ZIOUANI Abdelkader
HANINI Mekki

THEME

Analyse de l'ondansétron et granisétron par Spectrophotométrie UV-visible

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. M. Ferhat

MC.B.

Président

Mme .Z. Hadbaoui

MC.B.

Examineur

Mr. A. Herizi

MA.A.

Examineur

Mr. B. Saidat

Professeur

Rapporteur

Année Universitaire 2017- 2018

Remerciement

En premier lieu, nous remercierons Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et courage pour réaliser ce travail

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche physico-Chimie des Matériaux d'université Ammar Telidji sous la direction du **Pr. Guidadj Djamal Abdelnacer**

Il est agréable de nous acquitter d'une dette de reconnaissance auprès de toutes les Personnes, dont l'intervention au cours de ce travail a favorisé son aboutissement

Nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à la réussite de
Ce modeste travail

Nous tenons tout d'abord à remercier notre directeur de mémoire, **Mr Saidat.B** qui nous a Encadré d'une manière permanente jusqu'à la fin de ce travail et nous a donné le temps Suffisant et les conseils favorisants afin de mener à bien ce travail, Sa sympathie et sa Modestie nous font la plus grande estime.

Nous adressant nous plus sincères remerciements à **Mr Ferhat.M** qui nous à fait l'honneur d'accepter d'être notre président de jury de mémoire, je lui exprime ma
Profonde gratitude

Nous remercierons aussi **Mr Hamdi.A**, le Chef du Département de science de la matière
Pour nous avoir accueillies au sein du département

Nous tenons à remercier aussi **Mme Hadbaoui.Z** d'avoir fait l'honneur d'examiner notre
Travail

Nous plus sincères remerciements vont à **Mr Herizi.A** qui nous faisant l'honneur d'être
L'examineur de cette thèse

Nous adressant nous remerciements à tous les profs et l'équipe du Laboratoire de Département de science de matière pour tous les échanges techniques, scientifiques et pour leur sympathie, leur accueil chaleureux pendant la durée de mémoire

Dédicace

A Ceux que j'aime le plus au monde,

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur,

La profonde affection et admiration que j'éprouve pour vous. En reconnaissance des sacrifices

que vous avez toujours consentis pour moi, de vos encouragements, votre soutien et votre aide

morale et matérielle permanente. Que ce modeste travail soit pour vous un témoignage de

mon infini respect et mon profond amour.

A mon père,

A ma chère mère,

A mes frères et mes sœurs

Vous avez pour moi tout au long de mes études le plus grand symbole d'amour de

dévouement qui n'ont ni cesse ni diminué.

En jour, j'espère réaliser l'un de vos rêves, et j'espère ne jamais vous décevoir, ni trahir votre confiance.

Que dieu vous protège et vous offre un avenir plein de succès, bonheur du monde.

À la fille de ma sœur et la fille de mon frère

Naqrra Rachida, Ziouani Saïda

A tous la famille Ziouani

A tous mes amis,

Pour leurs infinies gentillesse, leurs patiences, encouragements et leurs énergies.

Ziouani abdelkader

Ziouani abdelkader

Dédicace

A ma mère, une mère merveilleuse, bienveillante et affectueuse qui n'a ménagé aucun effort tant moral que matériel pour me soutenir. Les mots ne peuvent l'exprimer tout ma reconnaissance et tout l'amour que j'ai pour toi

A la mémoire de mon père, J'aurais tant aimé que tu sois à mes côtés ce jour ce travail est pour moi le fruit de tes prières, j'espère qu'il te rendra fière de moi, Que ton âme repose en paix

A tout Ma famille qui a été d'un soutien moral, affectif et financier : Aux gens qui étaient avec moi et m'ont soutenu dans les premières étapes de ma carrière.

Rencontrés au début de ce mémoire vous êtes le don de mon Dieu dans les moments difficiles.

A tous mes amis, Surtout à mon ami et mon binôme, qui était un exemple de l'aide fidèle et amicale.

Hanini Mekki

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie I : Etude bibliographique

I.1 Généralité sur les médicaments.....	3
I.1.1. Définition d'un médicament.....	3
I.1.2. Composition des médicaments.....	3
I.2. Généralité sur l'Ondansétron et le Granisétron.....	4
I.2.1. Définitions.....	4
I.2.2. Mécanisme d'action d'ondansétron et de granisétron.....	4
I.2.3 caractérisation d'ondansétron et granisétron.....	5
I.2.3.1. Substance pharmaceutique.....	5
I.2.3.2. Propriétés physicochimique.....	5
I.3 .Méthodes Spectrophotométrie UV/VIS.....	6
I-3.1 Spectrophotométrie UV/VIS classique.....	6
I-3.2. Spectrophotométrie UV/VIS dérivative.....	6
I-3.2.1 Différenciation et spectre dérivée.....	6
I-3.2.2. Dérivés de bandes analytiques	9
I-3.2.3. Les méthodes courantes d'évaluation des spectres dérivés.....	10
I-3.2.3.1 Méthode de pic-pic (PP).....	11
I- 3.2.3.2 Méthode Pic-tangente (PT).....	11
I-3.2.3.3 La méthode de Pic-zéro (PZ).....	12
I-3.2.4 Application de la spectroscopie dérivée.....	12
I-4 Validation d'une méthode d'analyse.....	13
I-4.1 Définition.....	13
I-4-2 L'objectif	13
I-4-3 critères de la validation d'une méthode de dosage.....	14
I-4-3-1 Linéarité.....	14
I-4-3.2 Exactitude.....	14
I-4-3.3 Fidélité.....	14
I-4-3-4 Robustesse.....	15
I-4-3-5 Limites de détection et de quantification.....	15
I-4-3-6 Justesse.....	15

Partie II : partie expérimentale

II.A Présentation des matériels et méthode d'analyse	16
II-A-1 Introduction.....	16
II-A-2 Matériels et Méthode.....	16
II-A-2-1 Matériel.....	16
II-A-2-2 Produits et réactifs.....	16

II-A-3 Méthodologie.....	17
II-A-3-1 Préparation des solutions mères.....	17
II-A-3-2 Préparation des solutions filles de Principe actif pur.....	17
II-A-3-3 Préparation des solutions de mélange.....	17
II-A-3-4 Analyse les solutions par UV/vis.....	17
II-A-3-5 Etude statistique pour la Justesse de la méthode	17
II-A-3-6 Etude statistique pour la précision de la méthode	18
II-A-3-7 Application de la méthode pour dosage des deux principes actifs	18
II-A-3-8 Préparation des solutions pour la méthode de coloration.....	18
II-B Résultat et discussion.....	20
II-B-1 Détermination des spectres spectrophotométrie UV/VIS d'ordre zéro.....	20
II-B-1-1 Analyse spectrophotométrie d'ordre zéro du granisétron et d'ondansétron	20
II-B-1-2 Analyse spectrophotométrie d'ordre zéro des mélanges.....	21
II-B-2 Détermination les spectres de dérivé d'ordre un (d'UV/Vis).....	23
II-B-3 Détermination des courbes d'étalonnages.....	26
II-B-3-1 Courbe d'étalonnage de granisétron et ondansétron purs.....	26
II-B-3-2 Courbes d'étalonnages d'un principe actif en présence de l'autre.....	28
II-B-4 Etude statistique.....	30
II-B-4-1 Justesse d'une méthode.....	30
II-B-4-2 L'étude de la précision de la méthode pour le granisétron.....	31
II-B-4-3 L'étude de la précision de méthode pour l'ondansétron.....	33
II-B-5 Application.....	36
II-B-5-1 détermination de GRN et OND dans la formulation pharmaceutique.....	36
II-B-5-2 détermination de GRN et OND dans les mélanges formulés.....	37
Conclusion générale.....	39
Référence.....	41
Annexe.....	42

Abréviation

A : l'absorbance.

A_{\max} : Absorbance à λ_{\max} .

Abs : Absorption.

ATD : Analyse thermique différentielle.

ATG : Analyse thermique gravimétrique.

C : concentration.

CPG : Chromatographie phase gazeuse.

CV : Coefficient de variance.

$d^1, d^2, d^3, d^4, d^5, d^6$: premier, deuxième, troisième, quatrième, cinquième, sixième, dérivée.

D1 : spectre premier dérivée.

AED : Analyse Enthalpique Différentielle (Differential Scanning Calorimetry).

ET : Ecartype.

FT-IR : Fourier Transforme Infra-rouge spectroscopie

GRN : granisétron.

5-HT3 : 5-hydroxytryptamine₃

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance.

I_0 : l'intensité incidente.

I : l'intensité lumineuse transmise.

ICH : International Conference on Harmonisation.

ISO : International Organisation for Standardisation

k : Constant

LD : La limite de détection.

LQ : La limite de quantification.

n : l'ordre du dérivé.

OND : ondes étron.

OMS : Organisation Mondiale de la sante.

ϵ_{λ} : Le coefficient d'absorption molaire à une longueur d'onde.

λ : la longueur d'onde.

PP : la méthode pic-pic.

P1, P2...- $p1, p2...$: l'extrema positif - la distance de l'extrema positif.

ppm : partie par mille.

PT : la méthode pic-tangent.

PZ : la méthode pic-zéro.

r(%) : taux de recouvrement.

T : Transmittance.

t1, t2, t3 : la distance à la valeur extremum intermédiaire.

T_{λ} : La transmittance à une longueur d'onde.

UV/vis : Ultraviolet/visible.

z : la distance vertical à partir de la ligne zéro est mesuré.

Liste des figures

Partie I : Etude bibliographique

Figure N°I-1 : tangent d'un pic à des points définis.....	7
Figure N°I-2 : Spectres dérivés d'une bande d'absorption gaussienne.....	10
Figure N°I-3 : méthodes courants d'évaluations des spectres de dérivées '(a) pic-pic, (b) Pic-tangent, (c) pic-zero.....	11
Figure N° I-4 : L'évaluation du pic-zéro au passage du point zéro d'un autre signal.....	12

Partie II: Partie experimental

Figure N°II-1 : l'appareil UV/VIS.....	16
Figure N°II-2 : spectre d'ordre Zéro du granisétron.....	20
Figure N°II-3 : spectre d'ordre Zéro d'ondansétron.....	20
Figure N°II-4 : spectre d'ordre zéro dans le cas : (a) OND en présence de GRN,(b) GRN en présence de OND	21
Figure N°II-5 : illustre de spectre d'ordre un de GRN et d'OND et leur mélange [spectre (a) OND en présence de GRN, (b) GRN en présence d'OND]	23
Figure N°II-6 : les spectres d'ordre un : (a) de GRN pur, (b) d'OND, (c) d'OND en présence GRN, (d) GRN en présence OND	25
Figure N°II-7 : courbes étalonnages de GRN pur [(a)Abs en f (C) et (b) D1 en f (C)].....	26
Figure N°II-8 : courbes étalonnages d'OND pur [(a)Abs en f (C) et (b) D1 en f (C)].....	27
Figure N°II-9 : courbes étalonnages des D1 pour L'OND en présence de GRN	28
Figure N°II-10 : Courbe étalonnage de GRN en présence de l'OND	29

Liste des tableaux

Partie I : Etude bibliographique	
Tableau N°I-1 : propriétés physico-chimique des médicaments.....	5
Partie II : partie expérimentale	
Tableau N°II-1 : les concentrations différentes pour les granisétron et ondansétron.....	17
Tableau N°II-2 : Les longueurs d'onde caractéristique des spectres d'ordre zéro.....	22
Tableau N°II-3 : les longueurs d'ondes caractéristiques des spectres d'ordre un.....	24
Tableau N°II-4 : Les caractéristiques de régression linéaire du GRN, à 301 nm, et 319 nm.....	26
Tableau N°II-5 : Les caractéristiques de régression linéaire de l'OND, à 252 nm et 267.....	27
Tableau N°II-6 : Les caractéristiques de régression linéaire de l'OND en présence de GRN	28
Tableau N°II-7 : Les caractéristiques de régression linéaire du GRN en présence d'OND	29
Tableau N°II-8 : résultat de l'étude de la justesse.....	30
Tableau N°II-9 : résultat d'étude statistique d'ordre zéro pour le granisétron	31
Tableau N°II-10 : résultat d'étude statistique d'ordre un pour granisétron.....	31
Tableau N°II-11 : Les valeurs de coefficient de variation de répétabilité et reproductibilité pour d'ordre zéro pour le GRN.....	32
Tableau N°II-12 : Les valeurs de coefficient de variation de répétabilité et reproductibilité de l'ordre un pour le GRN.....	32
Tableau N°II-13 : Résultat de l'étude statistique de l'ordre zéro pour l'OND	33
Tableau N°II-14 : résultat d'étude statistique d'ordre un pour l'ondansétron.....	34
Tableau N°II-15 : les valeurs de coefficient de variation de répétabilité et reproductibilité d'ordre zéro et d'ordre un pour l'OND	35
Tableau N°II-16 : Les résultats de répétabilité et reproductibilité de l'ordre zéro et l'ordre un pour l'ondansétron.....	35
Tableau N°II-17 : les résultats détermination de GRN et d'OND dans la formulation Pharmaceutique.....	37
Tableau N°II-18 : les résultats de détermination de GRN et d'OND dans le mélange.....	38

Introduction générale

L'analyse pharmaceutique est une branche de la chimie pratique qui implique une série de processus pour l'identification, la détermination, la quantification et la purification d'une substance, la séparation des composants d'une solution ou d'un mélange, ou la détermination de la structure des composés chimiques.

La substance peut être un composé unique ou un mélange de composés et peut être sous n'importe quelle forme posologique. [1]

Dans l'industrie pharmaceutique, la nécessité de contrôler chaque produit, d'identifier et de qualifier (pureté, teneur) chaque matière première, pousse les scientifiques à rechercher des méthodes d'identification et d'analyse rapides et fiables et minimisant les étapes de préparation des échantillons. La plupart de ces méthodes utilisées aujourd'hui dans l'analyse d'un médicament, font appel à l'analyse instrumentale comme les méthodes chromatographique (CLHP, CPG...etc.), les méthodes thermique (ATD, ATG, DSC...etc.) et les méthodes spectroscopiques (FT-IR, UV/VIS....etc.). [2]

La spectrophotométrie ultraviolette-visible peut-être la technique spectrophotométrique la plus largement utilisée pour l'analyse quantitative des substances chimiques d'intérêt pharmaceutique. Les produits pharmaceutiques sont généralement commercialisés sous forme de formulations contenant le ou les principes actif (s) et les autres composants, appelés excipients. Ces derniers sont ajoutés à la formulation pour améliorer l'efficacité et l'apparence du produit, ou faciliter certaines étapes de la production.

La spectrophotométrie dérivée est parmi les techniques fiables qui permet l'analyse de multi-composants qualitativement et quantitativement en exploitant les spectres obtenus à partir de leurs dérivés du nième ordre (ordre 1 ou plus). Cette technique est simple et elle est très utilisée.

Dans ce mémoire nous nous sommes intéressés au dosage de granisétron et d'ondansétron de classe antagonistes des récepteurs 5-HT₃ de la sérotonine (sétrons) pour le traitement de l'antiémétique résultant de la chimiothérapie ou de la radiothérapie des cancers par deux méthodes spectrophotométriques, la spectrophotométrie UV/VIS classique et spectrophotométrie dérivée [3] .

Nous avons divisé notre travail en deux parties :

- Dans la 1^{ère} partie, nous présenterons une étude bibliographique concernant les médicaments et les méthodes de spectrophotométrie d'UV/VIS (directe et la dérivée) et leurs validations.
- La 2^{ème} partie, nous décrirons l'ensemble du matériel utilisé et les conditions expérimentales maintenues et choisies pour mener à bien ce travail et discuterons des résultats obtenus.

I.1 Généralité sur les médicaments

I.1.1.Définition d'un médicament

Un médicament est toute substance ou composition possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales. Par extension, un médicament comprend toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou l'animal ou pouvant être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. [4]

I.1.2.Composition des médicaments

➤ Principe actif

Le principe actif est une substance d'origine chimique ou d'origine naturelle, caractérisée par un mécanisme d'action précis dans l'organisme. Cette substance responsable a capacité de traitement ou de prévention recherchée [5].

➤ Les Excipients

La présence d'excipients est indispensable pour assurer la conservation du médicament lui donner un volume et une présentation utilisables par le malade et permettre son identification ; on verra qu'ils jouent aussi un rôle important dans la vitesse de mise à disposition de l'organisme du principe actif. Inactifs quant à leur intérêt thérapeutique, ils peuvent néanmoins entraîner des effets nocifs. [5]

➤ Additifs

D'après le comité FAO-OMS, un additif est défini comme une substance dotée ou non d'une valeur nutritionnelle, ajoutée internationalement à un aliment dans un but technologique sanitaire, organoleptique ou nutritionnel. Son emploi doit améliorer les qualités du produit fini sans présenter de danger pour la santé, aux doses utilisées. [6]

I.2.Généralité sur l'Ondansétron et le Granisétron

I.2.1.Définitions

➤ L'ondansétron

L'ondansétron appartient au groupe des médicaments antiémétiques : anti-nausées et vomissement. La substance active ondansétron est un antagoniste des récepteurs **5-HT3** (sérotonine). Ce médicament bloque les signaux qui vont au centre du vomissement dans le cerveau. Cela prévient l'apparition de nausées et réduit les nausées existantes. L'Ondansétron est disponible sous forme de comprimés ou ampoule injectable. [7]

➤ Le granisétron

Le granisétron est un antagoniste 5HT3 agit contre les nausées et les vomissements résultant de la chimiothérapie ou de la radiothérapie. Ce médicament est disponible sous forme de comprimés ou ampoule injectable. [8]

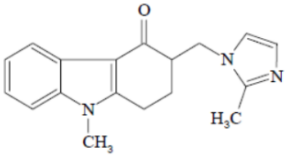
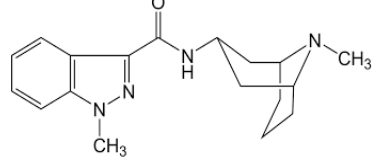
I.2.2.Mécanisme d'action d'ondansétron et de granisétron

L'ondansétron et le granisétron sont des puissants antagonistes et hautement sélectifs des récepteurs 5-HT3 à la sérotonine, impliqués dans les phénomènes de réflexe émétique. Leurs mode d'action précis permettant le contrôle des nausées et vomissements n'est pas connu. La chimiothérapie et la radiothérapie peuvent entraîner une libération de 5-HT dans l'intestin grêle déclenchant un réflexe de vomissement par stimulation des récepteurs 5-HT3 situés sur les fibres afférentes du vague. L'ondansétron et granisétron bloquent le déclenchement de ce réflexe. L'excitation des fibres afférentes du vague peut également provoquer une libération de 5-HT dans l'area postrema, située dans le plancher du quatrième ventricule et cela peut également favoriser les vomissements à travers un mécanisme central. L'effet de l'ondansétron et le granisétron dans la gestion des nausées et vomissements induisent par la chimiothérapie cytotoxique et la radiothérapie est probablement due à l'antagonisme des récepteurs 5-HT3 sur les neurones situés à la fois dans le système nerveux central et périphérique. Les mécanismes d'action en cas de nausées et vomissements postopératoires ne sont pas connus mais il peut y avoir une similitude avec des nausées et vomissements induisent par des cytotoxiques. [9]

I.2.3 caractérisation d'ondansétron et granisétron

I.2.3.1.Substance pharmaceutique

Tableau N°I-1 : Caractéristiques des substances pharmaceutiques.

Nom Propre	Ondansétron	Granisétron
Nom chimique	(±)-2,3-Dihydro-9-méthyl-3-[(2-méthylimidazol-1-yl) méthyl] carbazol-4 (1H)-one	1-méthyl-N-(1R, 3R, 5S)-9-méthyl-9-azabicyclo (3, 3,1)nonan 3-yl-1H imidazole-3-carboxamide.
Formule brut	$C_{18}H_{19}N_3O$	$C_{18}H_{24}N_4O$
Formule développé		
Masse moléculaire	293.36 g/mol	312,41 g/mol
Point des fusions	177 °C	-
Etat physique	Solide	Solide

I.2.3.2.Propriétés physicochimique

➤ Ondansétron

Le chlorhydrate dihydraté d'ondansétron est une poudre blanche à blanc cassé. Il est soluble à la température ambiante dans l'eau (~ 32 mg/ml) ou dans un soluté physiologique normal (~ 8 mg/ml), formant une solution limpide et incolore Son point de fusion est d'environ 177 °C. Son PKa est de 7,4, et le pH d'une solution aqueuse à 1 % poids/volume est d'environ 4,6. [10]

➤ Granisétron

Le granisétron est une poudre de couleur blanc cassé à jaune pâle, non hygroscopique, facilement soluble dans l'eau, le méthanol et le di chlorure de méthylène. Une forme cristalline unique de granisétron est systématiquement produite ; pas plus loin Des études sur le polymorphisme ont été réalisées. [11]

I.3 .Méthodes Spectrophotométrie UV/VIS

I-3.1 Spectrophotométrie UV/VIS classique

La spectrométrie moléculaire d'adsorption dans les domaines ultraviolet et visible constitue une technique de choix pour l'analyse qualitative et sur tout quantitative d'un grand nombre d'espèces inorganique et organique. Les méthodes basées sur l'absorption moléculaire dans l'ultraviolet et le visible figurent en effet parmi la technique d'analyse quantitative les plus communes dans les laboratoires chimiques et cliniques du monde entier. L'interaction de la radiation visible et ultraviolette avec la matière, en particulier avec une cellule contenant une substance sous forme moléculaire fournit de l'information qualitative. Sur cette substance, celle-ci est déduite de l'observation du spectre obtenu en portant l'absorbance ; la transmittance ou l'absorptivité molaire en fonction de la longueur d'onde ; de l'information quantitative est obtenue en étudiant l'absorption ou l'émission de la radiation UV-vis par les molécules en solution ; ces mesures quantitatives sont importantes notamment pour analyser des substances à impact environnemental et pour le contrôle de qualité dans certains processus industriels incluant ceux de l'industrie pharmaceutique. [12]

I-3.2. Spectrophotométrie UV/VIS dérivative

La dérivée spectrophotométrie est une méthode consistant à mettre à profit les informations résultant de la transformation du spectre d'absorption (dit d'ordre zéro) en un spectre de dérivée première ou d'ordre supérieur. Celui de dérivée première représente la pente du spectre originel, en chacun de ses points, en fonction de la longueur d'onde. La dérivée de l'absorbance, par rapport à la longueur d'onde, reste proportionnelle à la concentration comme le montre la dérivation de la loi de Beer – Lambert. Avec cette méthodologie, des différences presque imperceptibles sur le spectre originel peuvent être mises en évidence. Elle est surtout utilisée dans le cadre de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV visible.

Les avantages de la technique sont les suivants : meilleure résolution du spectre, possibilités supérieures d'analyse quantitative des mélanges. [13]

I-3.2.1 Différenciation et spectre dérivée

La différenciation d'une courbe ou de sa fonction mathématique est tout simplement une estimation de la pente sur toute la région. De la même manière, il est possible de différencier un spectre. En spectroscopie, la valeur mesurée est le rapport entre l'intensité de la lumière après avoir

quitté l'échantillon I à l'intensité de la lumière avant qu'elle entre dans l'échantillon I₀, Ce rapport est la transmittance T. d'où T= I/I₀

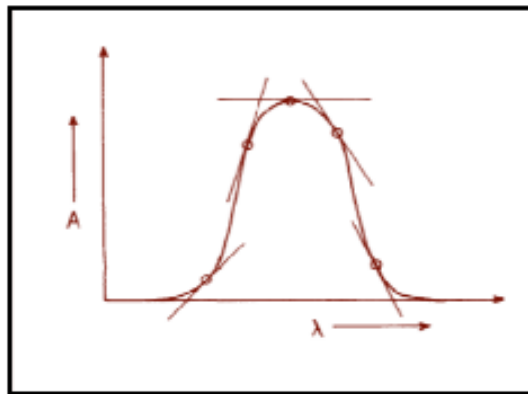


Figure N°I-1 : tangente d'un pic à des points définis

La relation entre I et la concentration d'un échantillon dissous, d'un liquide transparent ou d'un solide est donnée par Loi de Lambert-Bouguer et Beer (dite généralement loi de Beer-Lambert) :

$$T_{\lambda} = \frac{I_{\lambda}}{I_{0,\lambda}} = e^{-c l \epsilon_{\lambda}}$$

C (mol/l) : concentration de l'espace à analyser

l : longueur de trajectoire optique (cm)

ϵ_{λ} : Le coefficient d'absorption molaire (L · mol⁻¹ · cm⁻¹)

T_λ : La transmittance à une longueur d'onde

✓ Prenant le logarithme

$$\ln I_{\lambda} - \ln I_{0,\lambda} = -c l \epsilon_{\lambda} \quad (01)$$

✓ Cette expression est différenciés

$$\frac{d \ln (I)}{d \lambda} = -c l \frac{d \epsilon}{d \lambda} \quad (02)$$

✓ La première dérivée de l'équation 1 est définit par :

$$\frac{d (I)}{d \lambda} \times \frac{1}{I} = -c l \frac{d \epsilon}{d \lambda} \quad (03)$$

La première dérivée est directement proportionnelle à la concentration à chaque longueur d'onde. La sensibilité de la mesure est particulièrement élevée près des points d'inflexion, où les valeurs de dε/dλ sont extrêmes. [14]

✓ Pour la dérivée seconde, on trouve :

$$\frac{d^2 I}{d\lambda^2} \times \frac{1}{I} = c^2 l^2 \left(\frac{d\varepsilon}{d\lambda} \right)^2 - (c \times l) \times \frac{d^2 \varepsilon}{d\lambda^2} \quad (04)$$

Si la première dérivée de ε ($d\varepsilon/d\lambda$) est égale à zéro, la dérivée seconde sera directement (linéaire) proportionnelle à la concentration. Si non pas de relation linéaire est trouvé, et une courbe d'étalonnage spéciale sera nécessaire. En outre, pour les valeurs extrêmes de ($d^2\varepsilon/d\lambda^2$), la sensibilité de la mesure est particulièrement élevée.

✓ La même chose vaut pour la troisième dérivée,

$$\frac{d^3 I}{d\lambda^3} \times \frac{1}{I} = -cd \frac{d^3 \varepsilon}{d\lambda^3} + 3c^3 d^2 \frac{d\varepsilon}{d\lambda} \frac{d^2 \varepsilon}{d\lambda^2} - c^3 d^2 \left(\frac{d\varepsilon}{d\lambda} \right)^3 \quad (05)$$

Dans ce cas, ($d\varepsilon/d\lambda$) doit également être zéro pour que le troisième dérivé soit linéairement proportionnel à la concentration. En particulier la sensibilité élevée de mesure est obtenue aux épaules avec des tangentes horizontales aux points d'inflexion et à de petits rayons de courbure. Si, cependant, ($d\varepsilon/d\lambda$) n'est pas zéro (I, E., si on traite des points sans tangentes horizontales), alors des courbes d'étalonnage non linéaires doivent être préparées.

$$\frac{d^4 I}{d\lambda^4} \times \frac{1}{I} = -cd \frac{d^4 \varepsilon}{d\lambda^4} + 4c^2 d^2 \frac{d\varepsilon}{d\lambda} \frac{d^3 \varepsilon}{d\lambda^3} + 3c^2 d^2 \left(\frac{d^2 \varepsilon}{d\lambda^2} \right)^2 - 6c^3 d^3 \left(\frac{d\varepsilon}{d\lambda} \right)^2 + c^4 d^4 \left(\frac{d\varepsilon}{d\lambda} \right)^4 \quad (06)$$

La proportionnalité linéaire est donnée seulement lorsque ($d\varepsilon/d\lambda$) et ($d^2\varepsilon/d\lambda^2$) prendre des valeurs de zéro. Pour cette raison, les dérivés de la transmittance sont rarement utilisés, bien que la transmittance soit la grandeur physique qui peut être mesuré directement en spectrophotométrie. Toutes les autres grandeurs, par exemple, l'absorbance A , $\log A$, ou la concentration c , sont des grandeurs dérivées. Ils sont calculés à partir de la quantité fondamentale T .

Les équations pour les dérivés encore plus élevé peuvent être mises en place de manière similaire. L'absorbance A mentionné ci-dessus, est définie comme :

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \log_{10} \left(\frac{1}{T} \right) = C l \varepsilon'$$

ε' s'appelle maintenant le coefficient d'extinction molaire de la solution absorbante. Il s'ensuit cela :

$$\varepsilon' = \frac{\varepsilon}{2.303}$$

Dans tous les cas, A ainsi que tous les dérivés de A sont linéairement proportionnelle à la Concentration (C). C'est un grand avantage dans le calcul et l'interprétation des spectres dérivés, et donc dans la pratique, les dérivés d'un sont généralement générées, tandis que les dérivés de T sont rares. [14]

Parfois, la différenciation de A peut entraîner une dépendance non linéaire des dérivés de la concentration. C'est toujours le cas si la loi de Beer n'est pas obéi, par exemple, si les interactions entre les molécules de la substance ou entre la substance et le solvant se produire, ou si l'association et de dissociation sont observées. En outre, il se peut que ce qu'on appelle les satellites soient inquiétants signaux principaux, dans ce cas, un ordre supérieur ou inférieur de la différenciation doit être calculé. [14]

I-3.2.2. Dérivés de bandes analytiques

Une bande d'absorption, aussi a appelé une bande d'analyse, peut-être plus précisément décrits par des formules d'approximation. Gaussiennes sont bien adaptés pour décrire des bandes UV-VIS [17-18]. L'absorbance A de la bande de longueur d'onde λ à est donnée par :

$$A_{\lambda} = A_{\max} \times e^{-kx^2}$$

A_{\max} : absorbance à λ_{\max}

k : constante

x : $(\lambda - \lambda_{\max})$

✓ Différenciant cette équation par rapport à λ conduit l'expression suivante :

$$\frac{dA_{\lambda}}{d\lambda} = d^1 = (-2) k x \times A_{\lambda} \quad (2)$$

$$\frac{d^2 A_{\lambda}}{d\lambda^2} = d^2 = 2k (2kx^2 - 1) \times A_{\lambda} \quad (3)$$

$$\frac{d^3 A_{\lambda}}{d\lambda^3} = d^3 = (-4) k^2 x (2kx^2 - 3) \times A_{\lambda} \quad (4)$$

$$\frac{d^4 A_{\lambda}}{d\lambda^4} = d^4 = 4k^2 (4k^2 x^2 - 12kx^2 + 3) \times A_{\lambda} \quad (5)$$

$$\frac{d^5 A_{\lambda}}{d\lambda^5} = d^5 = (-8) k^3 x (4k^2 x^2 - 20kx^2 + 15) \times A_{\lambda} \quad (6)$$

$$\frac{d^6 A_{\lambda}}{d\lambda^6} = d^6 = 8k^3 (8k^3 x^6 - 60k^2 x^4 + 90kx^2 - 15) \times A_{\lambda} \quad (7)$$

Les deux dernières sont particulièrement fréquentes dans les logiciels d'acquisition de données des spectrophotométries UV-visible. Les résultats de la différenciation de simples bandes d'analyse sont représentés graphiquement dans la **Figure N°I-2** A partir de ces résultats [15].

Nous apprenons que :

- a) Le maximum de la courbe fondamentale dans des dérivés d'ordre-impair correspond à un passage par zéro, et dans des dérivés d'ordre égal il correspond à une valeur d'extremum d'un minimum ou d'un maximum.
- b) Les inflexions sur la courbe fondamentale mènent à l'extrema d'impair-ordre et aux passages mettent de dans des dérivés à zéro d'égal-ordre.
- c) Avec l'augmentation de l'ordre du dérivé, le nombre d'extrema dépasse cela de la courbe fondamentale parce que chaque inflexion donne un extremum supplémentaire par différenciation. Dans ce cas on parle de l'extrema virtuel, ou des satellites.

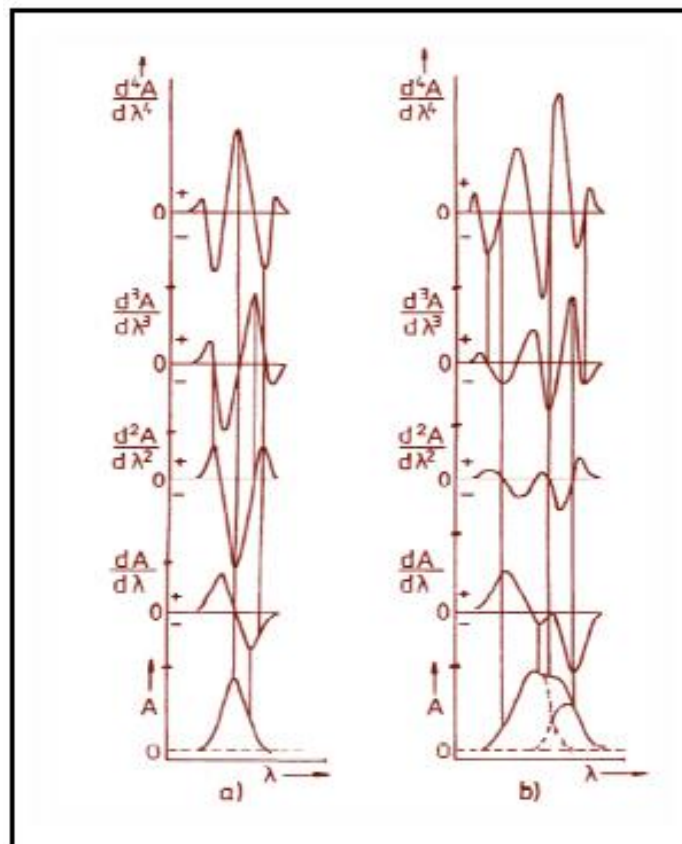


Figure N°I-2 : Spectres dérivés d'une bande d'absorption gaussienne (a) composé pur et (b) mélange de deux composés

I-3.2.3. Les méthodes courantes d'évaluation des spectres dérivés

Selon le problème à résoudre, différentes méthodes d'évaluation sont utilisées. Pour les enquêtes quantitatives, seules les amplitudes des signaux sont pertinentes, et la position réelle de l'extrema n'est pas importante si les conditions de la manipulation de données ne sont pas modifiées et une courbe d'étalonnage est prise. Mais si les positions exactes des extrema on souhaite identifier les pics dans un spectre ou de calculer les énergies d'excitation, les

déplacements des maxima et les minima doivent être évités, ou si cela n'est pas possible, l'écart doit être corrigé.

I-3.2.3.1 Méthode de pic-pic (PP)

La méthode de Pic-Pic (PP) est la plus utilisée généralement pour estimer des concentrations des substances connues (**Figure N°I-3a**). Dans les dérivés des courbes d'absorption, la distance d'un maximum à un minimum est généralement directement proportionnelle à la concentration des substances :

Dans les dérivés de l'ordre $4n$ th ($n=1, 2, 3, \dots$) l'extrema positif (P_1, P_2) ont été évalués en estimant les distances p_1 et p_2 , qui sont proportionnels aux concentrations des substances appropriées. Dans $(4n-2)$ des ordres dérivés, p_4 du maximum négatif P_4 doit être mesuré. Cette méthode de PP est fréquemment employée pour l'analyse à plusieurs éléments quantitative. [16]

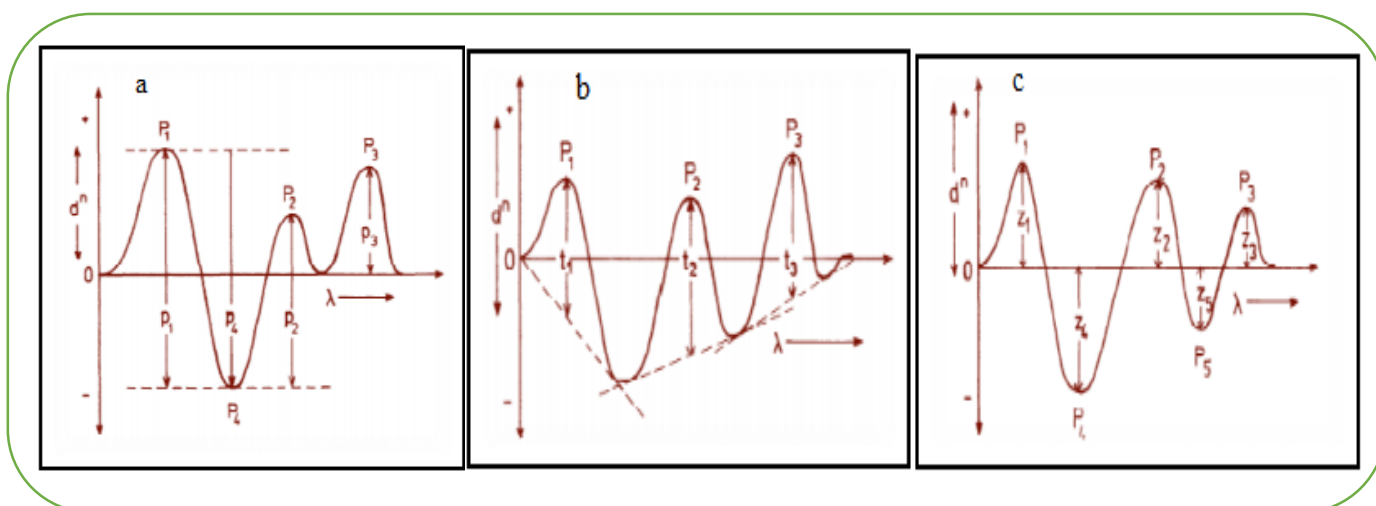


Figure N°I-3 : méthodes courantes d'évaluations des spectres de dérivées : (a) pic-pic, (b) pic-tangent, (c) pic-zero

I- 3.2.3.2 Méthode Pic-tangente (PT)

Dans le procédé pic-tangente (PT) une tangente commune est tirée à deux maxima ou des minima voisins, et la distance à la valeur extremum intermédiaire est mesurée parallèlement à l'axe des ordonnées (t_1, t_2, t_3) de la **Figure N°I-3b**. Cette méthode peut être appliquée de manière satisfaisante, si un fond linéaire est présent, mais la plupart du temps il est préférable de vérifier si un ordre plus élevé donnera des résultats plus exacts. [16].

I-3.2.3.3 La méthode de Pic-zéro (PZ)

La méthode de Pic-zéro (PZ) d'évaluation est employée seulement dans des cas particuliers. La distance verticale z partir la ligne zéro est mesuré (**Figure N°I-3c**), qui est proportionnelle à la

valeur absolue du dérivé. Il convient à de plus hauts dérivés qui ont les signaux presque symétriques en ce qui concerne l'abscisse. Cette méthode est également recommandée si les différentes courbes recouvrent dans un état sans distorsion, et un des signaux traverse zéro à cette position de λ (**Figure N°I-4**). [16]

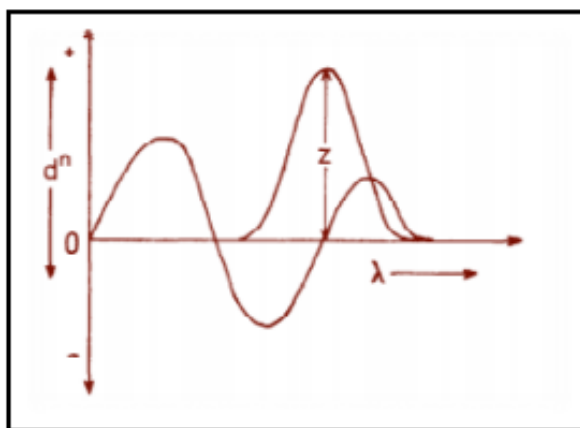


Figure N°I-4 : L'évaluation du pic-zéro au passage du point zéro d'un autre signal

I-3.2.4 Application de la spectroscopie dérivée

a- Analyse pharmaceutique

- Cette technique est principalement utilisée pour la détermination de la principale composante des produits pharmaceutiques en présence d'additivités de drogue.
- utilisé pour étudier la stabilité de produits pharmaceutiques ou pour la détermination de la décomposition des produits.
- l'utilisation de spectres de seconde dérivée pour la détermination des traces de benzène dans l'éthanol à 96%.
- la méthode dérivée seconde pour la détermination de B6, B1 et les vitamines B12 dans leurs mélanges ternaires.

b- Analyse d'échantillons cliniques et biologiques

- La première spectrophotométrie dérivée a été utilisée pour la détermination simultanée de céfuroxime et de céfadroxil urine. [17]
- Les mesures des spectres dérivés du troisième ordre à 402 nm ont été proposées pour le dosage de l'amphotéricine-B dans le sérum et l'urine.

c- Analyse environnementale

- La technique de spectrophotométrie dérivée est très utilisée pour la détermination de divers pesticides dans les échantillons d'eau souterraine, de sol ou de plantes.

- Détermination du ferbam (fer (III) diméthylthiocarbamate) fongicide dans des échantillons de grains de blé et en préparation commerciale.

d- Analyse de la nourriture, colorants cosmétiques

Les méthodes spectrophotométriques dérivées ont trouvé des applications dans l'analyse des aliments ou des cosmétiques. Dans ces analyses, les composés principalement déterminés sont des colorants ou des conservateurs.

e- Analyse inorganique

- la spectrophotométrie dérivée pour l'analyse quantitative des mélanges binaires, ternaires et quaternaires ions divalents de cobalt, cuivre, plomb, manganèse, nickel, zinc et le fer.
- l'utilisation des spectres de la première dérivée permettait détermination simultanée des analytes dans les mélanges binaires à l'exception de Cu (II) ou Co (II) en présence de Fe (II).

f- Applications diverses

- l'analyse de compositions d'acides aminés obtenues par hydrolyse de protéines.
- La spectrophotométrie dérivée a été appliquée pour la résolution de mélanges binaires de certains flavonols et un flavon.
- Utiliser pour la détermination de l'impureté. [17]

I-4 Validation d'une méthode d'analyse

I-4-1 Définition

Selon la norme ICH (the International Conference on Harmonisation), la validation d'une méthode est définie comme étant l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver que le protocole est suffisamment exacte et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé [18].

I-4-2 L'objectif

L'objectif de la validation d'une méthode analytique est de démontrer que chaque mesure réalisée ultérieurement en routine sera suffisamment proche de la valeur vraie ou dans les limites acceptables selon le besoin de l'analyse. Les critères de la validation sont fixes en fonction de la Finalité de la procédure analytique. [19]

I-4-3 critères de la validation d'une méthode de dosage

Les critères de validation cités ci-dessous seront donc adaptés à ce type de démarche. Notons qu'il existe des logiciels qui permettent d'effectuer les tests statistiques de vérification de chacun de ces critères.

I-4-3-1 Linéarité

Il s'agit de la capacité, à l'intérieur d'un certain intervalle, d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en traceur à examiner dans l'échantillon. L'intervalle de concentrations à valider est couvert par une série de 5 concentrations au minimum régulièrement espacées contenant le 100 %.

I-4-3.2 Exactitude

Elle exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie, soit comme une valeur de référence acceptée, et la valeur trouvée (valeur moyenne) obtenue en appliquant la procédure d'analyse sur un certain nombre de fois. Elle est parfois appelée justesse, et s'exprime par le taux de recouvrement : [20]

$$r(\%) = \left(\frac{C_{exp}}{C_{pré}} \right) \times 100.$$

C_{exp} : concentration expérimental

$C_{pré}$: concentration préparé.

I-4-3.3 Fidélité

La fidélité de la procédure exprime le degré de dispersion entre une série provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites : les essais effectués sur des produits identiques dans des circonstances présumées identiques, ne conduisent généralement pas à des résultats identiques. Cela est dû à l'existence d'erreurs aléatoires, inhérentes à toute méthode d'essai. Les facteurs contribuant à la variabilité d'une méthode analytique comprennent :

- L'opérateur.
- L'équipement utilisé.
- L'étalonnage de l'équipement.
- L'environnement (température, humidité, pollution de l'air,...).
- Les réactifs.

La **fidélité** fournit une explication sur les erreurs liées au hasard. Elle s'exprime par la mesure de la reproductibilité et de la répétabilité. Ces deux mesures extrêmes de la variabilité sont suffisantes pour convenir à la plupart des cas courants :

La **répétabilité** se rapporte à des essais de la même grandeur, réalisés dans des conditions aussi stables que possible, dans de courts intervalles de temps, dans un même laboratoire, par le même opérateur employant le même équipement.

La **reproductibilité** a trait à des essais réalisés dans des conditions variables, par différents opérateurs et équipements, et à des jours différents. Le protocole de détermination de ces critères peut être exprimé sous la forme d'un plan expérimental. [20]

I-4-3-4 Robustesse

L'étude de la robustesse permet de définir les variations admissibles de chacun des paramètres opératoires critiques qui sont sans effet sur la validité des résultats fournis, ces paramètres étant étudiés séparément les uns des autres, ou regroupés. Comme pour l'étude de la linéarité, les essais de détermination de la robustesse sont regroupés sous la forme d'un plan d'expérience. [20]

I-4-3-5 Limites de détection et de quantification

La limite de **détection** (LD) est la plus petite quantité de la substance ciblée qui peut être détectée, mais pas exactement quantifiée dans un échantillon. La limite de **quantification** (LQ) est la plus petite quantité de la substance ciblée dans un échantillon qui peut être déterminée dans des Conditions expérimentales prescrites avec une exactitude bien définie.

I-4-3-6 Justesse

Selon la norme NF ISO 3534, la justesse est définie comme l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et d'une valeur de référence acceptée. La justesse se mesure, à un niveau donné de concentration, dans la zone quantifiable pratique de la molécule. Elle s'exprime par l'erreur relative. [21]

A. Présentation des matériels et méthode d'analyse

II -A-1 Introduction

Pour réaliser notre travail expérimental, nous avons utilisé la méthode spectrophotométrie UV/VIS d'absorption et sa dérivée première pour analyser qualitativement et quantitativement notre deux principes actifs seuls et leur mélange.

II-A-2 Matériels et Méthode

II-A-2-1 Matériel

L'appareil utilisé est spectrophotométrie UV visible, modèle SECOMAM série UvLine 9400 équipé d'une cuvette en quartz, et enregistrée avec les paramètres suivant :

- Zone de longueur d'onde : 200-400 nm.
- Pas de mesure : 1 nm.

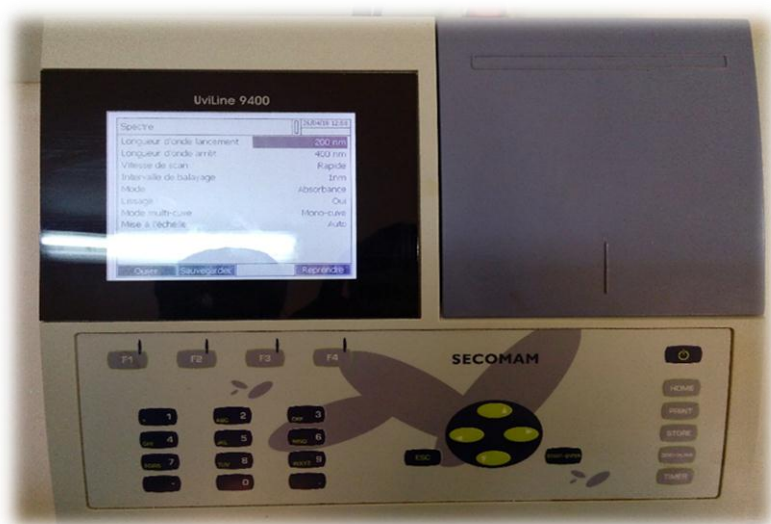


Figure N°II-1 : l'appareil UV/VIS

Nous avons aussi utilisé les matériels suivant : (béchers, pipettes, pro-pipettes, fioles jaugées, erlenmeyer, balance, mortier), et les spectres sont traités par le logiciel Origine 8,1.

II-A-2-2 Produits et réactifs

- Le granisétron (poudre pur).
- Comprimés 4mg et ampoules 2mg/mL d'ondansétron.
- Méthanol.
- Eau distillée.

II-A-3 Méthodologie

II-A-3-1 Préparation des solutions mères

Les solutions mères sont préparées, pour chaque principe actif en pesant 0.0062 g de granisétron (poudre pur) et 0.008g d'ondansétron, puis solubiliser dans l'eau distillée et dans le méthanol respectivement.

II-A-3-2 Préparation des solutions filles de principe actif pur

➤ Granisétron

A partir de la solution mère de concentration 124 ppm, nous avons préparé onze solutions filles de concentrations allant de 0.992ppm à 24.8ppm, par dilutions successives.

➤ Ondansétron

A partir de la solution mère de concentration 320 ppm, nous avons préparé onze solutions filles de concentrations allant de 0.64ppm à 25.6 ppm.

II-A-3-3 Préparation des solutions de mélange

A partir des solutions mères d'ondansétron (320ppm) et de granisétron (124ppm) nous avons préparé les deux mélanges suivant :

- 1^{er} mélange contient l'ondansétron de concentrations variables entre 0.64-25.6 ppm et du granisétron de concentration fixe égale à 12.4 ppm.
- 2^{ème} contient le granisétron de concentrations variables entre 0.992-24.8 ppm et de l'ondansétron de concentration fixe égale 12.8 ppm.

II-A-3-4 Analyse les solutions par UV

Le spectre UV-visible de chaque concentration du granisétron, de l'ondansétron et de leurs mélanges dans les deux cas est déterminé. A partir des spectres obtenus et après déterminations des longueurs d'onde caractéristiques pour chaque cas, des courbes d'étalonnage ont été tracées.

II-A-3-5 Etude statistique pour la précision de la méthode

Afin de vérifier la précision de la méthode, nous avons préparé trois solutions de concentrations fortes, moyennes et faibles de chaque principe actif (ondansétron et granisétron) comme le montre le tableau N°II-1. Chaque solution est préparée cinq fois puis analysée deux fois dans le même jour.

Tableau N°II-1 : les concentrations différentes pour les granisétron et ondansétron.

	Concentration fort mg/l	Concentration Moyenne en mg/l	Concentration faible en mg/l
Granisétron	17.36	9.92	0.992
Ondansétron	17.28	10.24	1.28

II-A-3-6 Etude statistique pour la fidélité de la méthode :

Afin d'étudier la fidélité de la méthode pour les deux principes actifs (granisétron et ondansétron) nous avons préparé cinq solutions de la même concentration (forte) et analysé deux fois par jour et répétée dans trois jours avec le même opérateur.

II-A-3-7 Application de la méthode pour dosage des deux principes actifs

Afin de déterminer le GRN et l'OND dans la formulation pharmaceutique soit dans la forme individuelle ou dans la forme combinée, nous avons procédé comme suit :

➤ Granisétron

Vue la non disponibilité de ce médicament dans le marché Algérien, nous avons préparé le mélange représentatif d'un comprimé de 1mg. Pour ce faire, nous avons pesé 2mg du granisétron pur (qui correspond à deux comprimés) et mélangé aux quatre excipients (Amidon mais, Lactose, stéarate de Mg, macrogol 400) avec la même quantité (0.008 g). Le mélange est ensuite dissout dans l'eau distillée puis filtré pour avoir une solution mère de concentration 40 ppm de granisétron. A partir de la solution mère (40mg/l), nous avons préparé des solutions filles pour doser le granisétron seul et en présence de l'ondansétron.

➤ Solutions d'ondansétron et le mélange

A partir le médicament commercial SETRON « ondansétron injectable 2 mg/ml », nous avons préparé des solutions pour doser l'ondansétron seul et en présence de granisétron.

II -A-3-8 Préparation des solutions pour la méthode de coloration

[22]

➤ Préparation de 1-10 phenanthroline

Nous avons pesé 0.0199 g de 1-10 phenanthroline et ajouter 50 ml l'eau distiller puis agité jusqu' la dissolution totale et compléter avec l'eau distiller dans fiole 100 ml.

➤ **Préparation de FeCl₃**

Nous avons pesé 0.0827g de FeCl₃ et solubiliser dans 10 ml l'eau distiller.

➤ **Manipulation**

Nous avons préparé le mélange suivant :

0.5ml de GRN (124mg/l) + 1.5ml de 1-10 phenanthroline (0.01M) + 1ml de FeCl₃ (0.03M)

Placé le mélange dans un bain marie à 60 °C pendant 15 minutes.

Remarque : après le chauffage, aucune coloration n'est obtenue, donc la méthode est abandonnée.

II-B. Résultat et discussion

II-B-1 Détermination des spectres spectrophotométrie UV d'ordre zéro

II-B-1-1 Analyse spectrophotométrie d'ordre zéro du granisétron et d'ondansétron

- ✓ Pour analyser le granisétron pur, les spectres UV d'ordre zéro de les solutions étalons (0.992-24.8 ppm) ont été enregistrés allant de 200nm à 400 nm. Ces spectres sont représentés dans la **figure N°II-2** entre 225 nm et 350 nm.

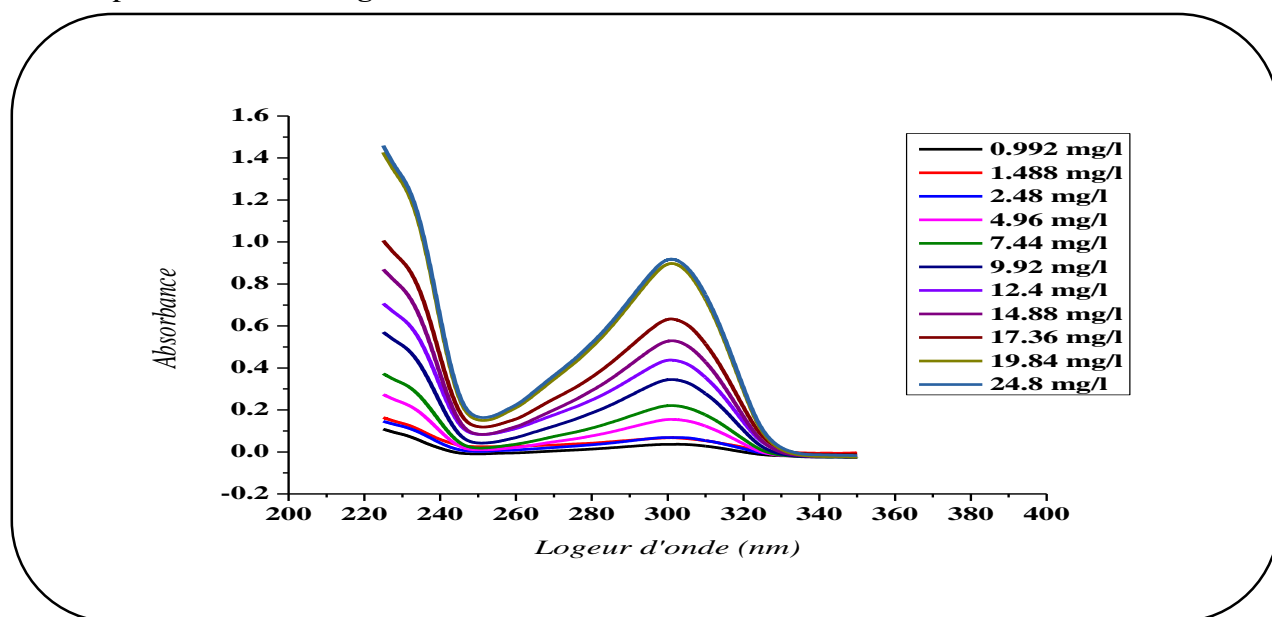


Figure N°II-2 spectre d'ordre Zéro du granisétron

- ✓ Pour analyser l'ondansétron pur, les spectres UV d'ordre zéro de les solutions étalons (0.64 -19.2 ppm) ont été enregistrés allant de 200nm à 400 nm. Ces spectres sont représentés dans la **figure N°II-3** entre 225 nm et 350 nm.

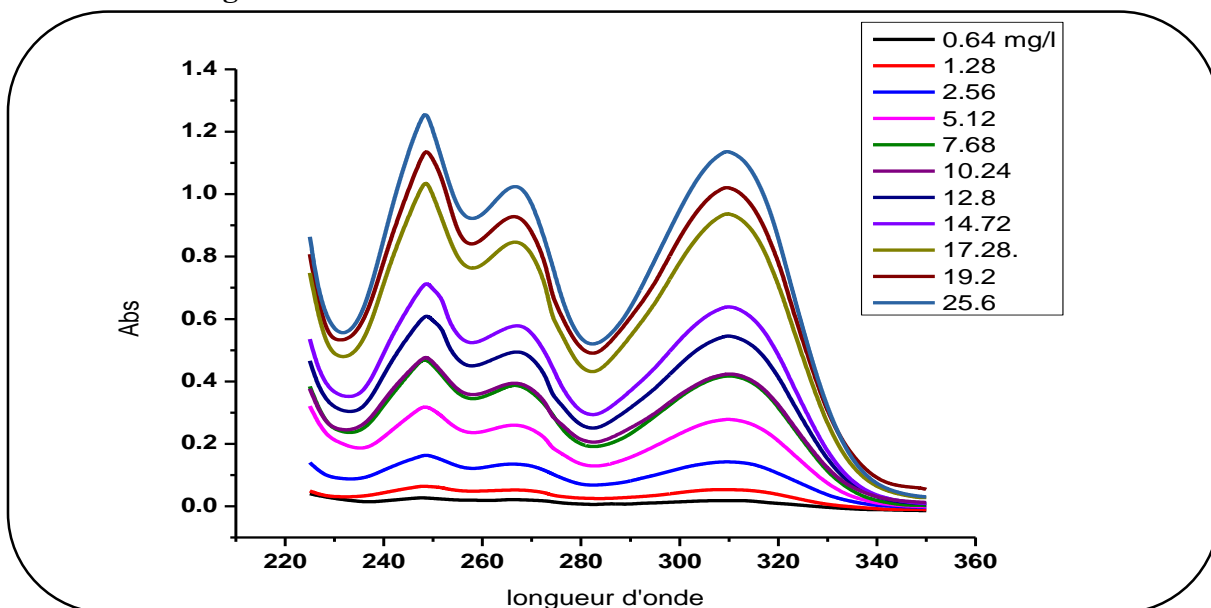


Figure N°II-3 spectre d'ordre Zéro d'ondansétron.

➤ Remarque

- A partir des spectres d'ordre zéro d'ondansétron et de granisétron, nous avons observé
 - une absorbance maximale à 301 pour GRN nm.
 - trois absorbances maximales à 249, 267 et 310 nm pour l'Ondansétron.

II-B-1-2 Analyse spectrophotométrique d'ordre zéro des mélanges

Dans le cas de la combinaison des deux principes actifs, les spectres d'ordre zéro du granisétron (ou ondansétron) en présence de l'ondansétron (ou granisétron) ont été enregistrés entre 200 nm et 400 nm et représentés dans les **figures N°II-4** (entre 225-350 nm).

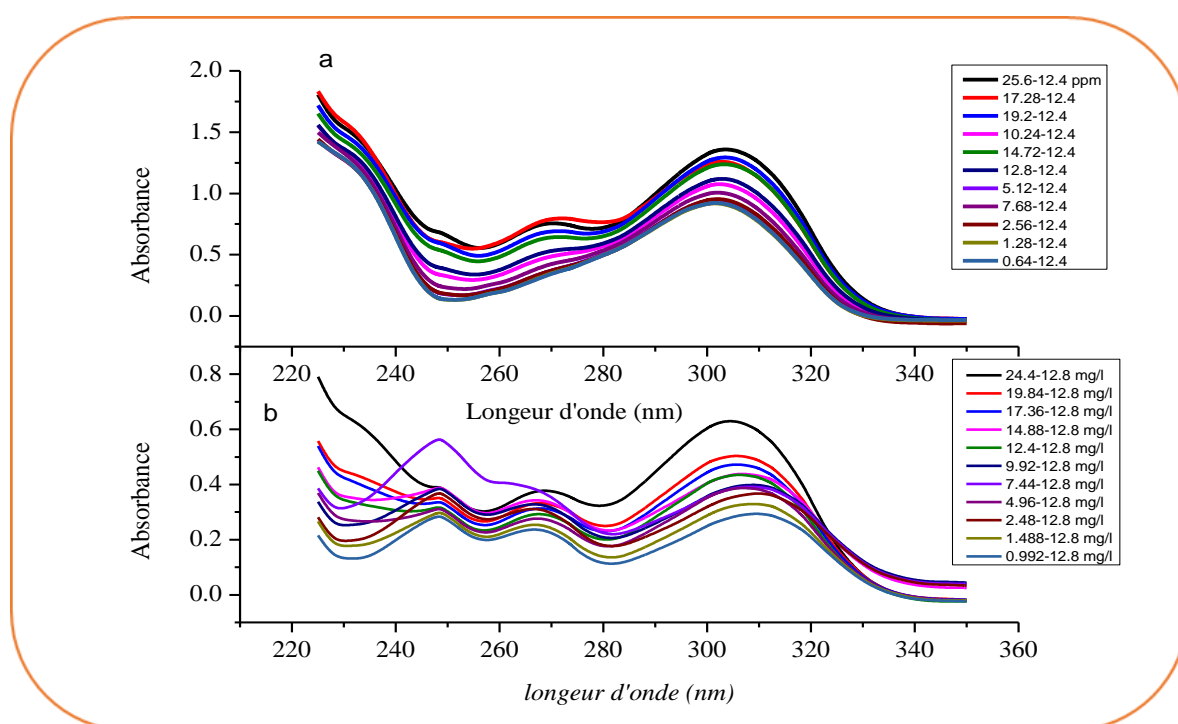


Figure N°II-4 : spectre d'ordre zéro dans le cas : (a) OND en présence de GRN,
(b) GRN en présence d'OND.

D'après ces figures, nous avons obtenus les bandes caractéristiques pour chaque principe actif en présence de l'autre :

- Ondansétron en présence du granisétron : deux longueurs d'ondes caractéristiques, l'une à 267 nm (petite) et l'autre remarquable entre 302-303 nm (**figure N°II-4a**)
- Granisétron en présence de l'ondansétron : trois bandes remarquables à 249, 267 et 308 nm (**figure N°II-4b**) Le **tableau N°II-2** regroupe ces longueurs d'ondes dans les deux cas.

Tableau N°II-2 : Les longueurs d'onde caractéristique des spectres d'ordre zéro.

Les composés	Maximum (nm)	Minimum (nm)
Granisétron pur	301	252
Ondansétron pur	249-267-310	233-258-283
Mélange à concentration de GRN constant	302-303 267	256
Mélange à concentration d'OND constant	249-267 308	232-257 281

D'après ce tableau nous remarquons que dans le cas :

- **du spectre de l'ondansétron en présence du granisétron** : la bande caractéristique à 301nm de ce dernier se recouvre avec celle de l'ondansétron qui se trouve à 310 nm avec un déplacement vers la plus petite. Cela est dû probablement aux entités conjuguées présentes dans les molécules. En effet, le granisétron présente un nombre de conjugaison plus élevé par rapport à l'ondansétron qui augmenterait l'intensité de sa bande. la différence des groupements joue aussi un rôle dans le déplacement des bandes vers les grandes ou petites longueurs d'ondes d'où les spectres obtenus. Nous remarquons aussi que toutes les bandes de l'ondansétron augmentent avec sa concentration y compris celle à 301nm.
- **Du spectre du granisétron en présence de l'ondansétron** : la bande caractéristique à 301 du granisétron se décale vers 308 nm influencé par la présence de l'ondansétron ce déplacement remarquable est aussi aux effets mentionnés ci-dessus. L'intensité de toutes les bandes augmentent avec la concentration du granisétron.

D'après ces résultats obtenus à partir des spectres d'ordre zéro, il est difficile de doser le principe actif considéré en présence de l'autre. Nous avons alors étudiés les spectres dérivés.

II-B-2 Détermination les spectres de dérivé d'ordre un (d'UV)

Nous avons déterminé les spectres d'ordre un de chaque médicament ainsi que dans le cas du principe actif en présence de l'autre. La **figure N°II-5** illustre ces spectres.

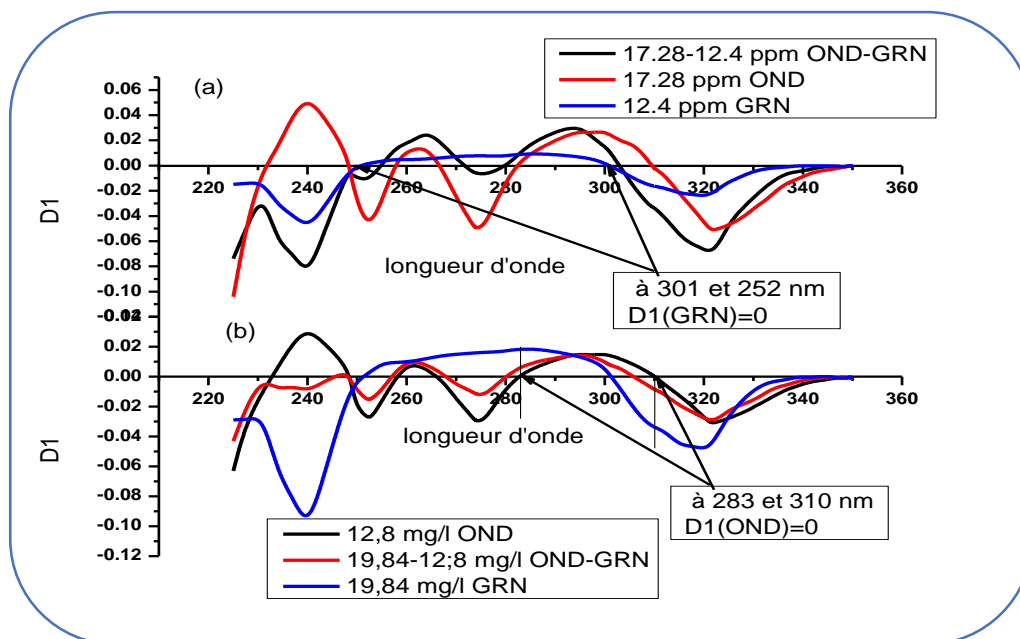


Figure N°II-5 : illustre de spectre d'ordre un de GRN et d'OND et leur mélange [spectre (a) OND en présence de GRN, (b) GRN en présence d'OND]

- ✚ D'après la **Figure N°II- 5(a)**. Dans le spectre de granisétron, nous avons trouvé :
 - deux points d'annulations, l'un à 252 nm et l'autre à 301 nm.
 - Deux minimums (à 240 et 319 nm)
 - Un maximum représenté par une bande large dans le domaine 280-300 nm.
- ✚ A partir la **figure N°II-5(b)**, nous avons remarqué que l'ondansétron ayant trois minimums à 252,274 et 322 nm, trois bandes maximums à 240, 262 et 296 nm, aussi il y a 7 points d'annulations à 233, 249, 258, 267, 350, 283et 310 nm. Le tableau suivant regroupe ces les longueurs d'ondes.

Tableau N°II-3 : les longueurs d'ondes caractéristiques des spectres d'ordre un de GRN et OND et l'un en présence de l'autre.

Composés	Maximum (nm)	Minimum (nm)	Point d'annulation
Granisétron	Dans la gamme 280-300	240	252
		319	301
Ondansétron	240,262	252, 274,	233, 249, 256, 267
	296	322	283, 310, 350

D'après le **tableau N°II-3** et la **figure N°II-5** nous remarquons que dans le cas :

- **De l'ondansétron en présence de granisétron** : aux points d'annulations de GRN (252, 301 nm), l'ondansétron ayant une amplitude remarquable dans le spectre d'ordre un de mélange, donc, à ces longueurs d'onde, nous pouvons analyser l'ondansétron dans la formulation pharmaceutique en présence de granisétron.
- **Du granisétron en présence de l'ondansétron** : aux points d'annulations du spectre d¹ de l'OND 283, 310 nm, le GRN possède une amplitude positive et négative respectivement. donc, nous pouvons doser le granisétron dans la formulation pharmaceutique en présence d'ondansétron par la spectrophotométrie dérivée d'ordre un.

La **figure N°II-6** regroupe tous les spectres d'ordre un de chaque principe actif et de chacun en présence de l'autre.

II-B-3 Détermination des courbes étalonnages

Après avoir obtenu les spectres d'UV d'ordre zéro et d'ordre un, nous avons tracé les courbes d'étalonnages pour le granisétron pur, l'ondansétron pur et dans le cas de l'ondansétron (granisétron) en présence du granisétron (ondansétron) aux longueurs d'ondes caractéristiques.

II-B-3-1 Courbe d'étalonnage de granisétron et ondansétron purs

✓ Pour granisétron pur

La **figure N°II-7** représente les courbes d'étalonnages, l'une (a) obtenue par les spectres d'ordre zéro à 301 nm et l'autre (b) est obtenue à partir des spectres d'ordre un à 319 nm et le **Tableau N°II-4** illustre les caractéristiques des régressions linéaires du granisétron pur.

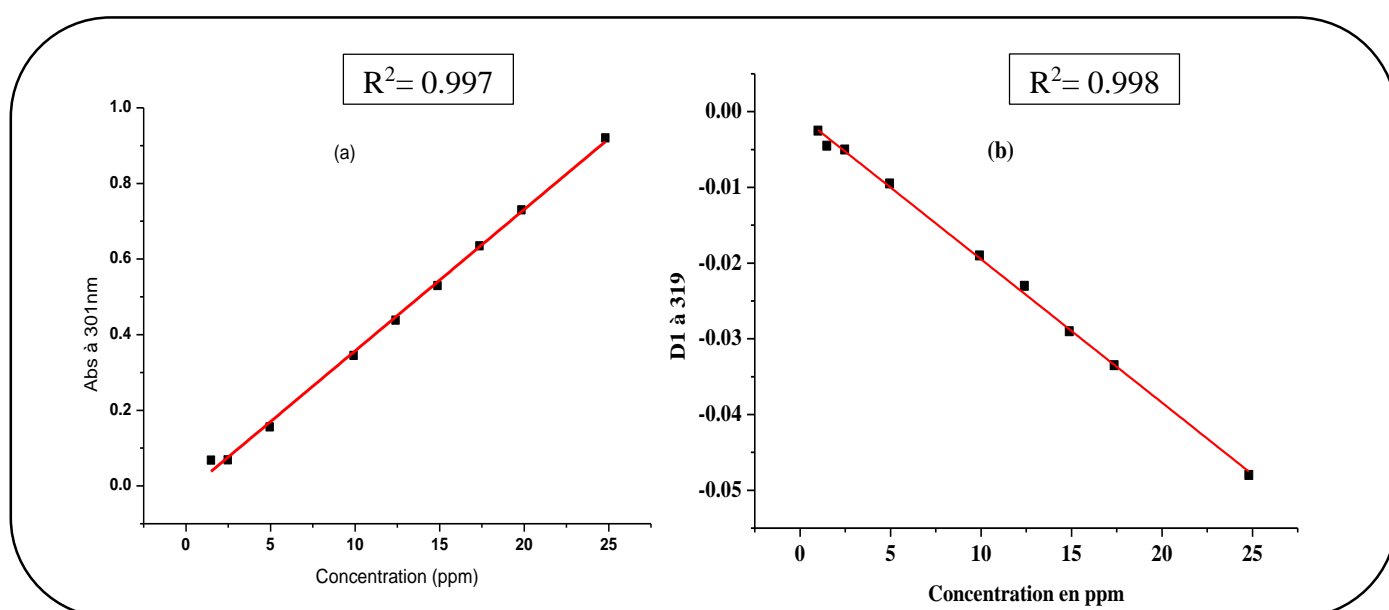


Figure N°II-7 : courbes étalonnages de GRN pur [(a) Abs en fonction de C et (b) D1 en fonction de C].

Tableau N°II-4 : Les caractéristiques de régression linéaire du granisétron, à 301 nm, et 319 nm

Les caractéristiques de régression linéaire	Granisétron	
	301 (Abs)	319 (D1)
Longueur d'onde (nm)	301 (Abs)	319 (D1)
Gamme concentration (mg/l)	0.992-24.8	
La pente	0.03741	-0.00189
Erreur de la pente	0.000629116	0.000028388
L'ordonné à l'origine	-0.01715	-0.000539915
Erreur d'ordonné à l'origine	0.00894	0.00035077
Coefficient de corrélation	0.997	0.998

A partir le **tableau N°II-4** nous avons trouvé que les courbes étalonnages de D1 à 319 nm et d'absorption à 301 présentent un bon coefficient de corrélation pour l'analyse du granisétron.

✓ **Pour l'ondansétron pur**

La courbe d'étalonnage de l'ondansétron pure à 252 nm et 267 nm présente dans la **figure N°II-8** et le **tableau N°II-5** présente les caractéristiques de régression linéaire à 252 nm et 267 nm.

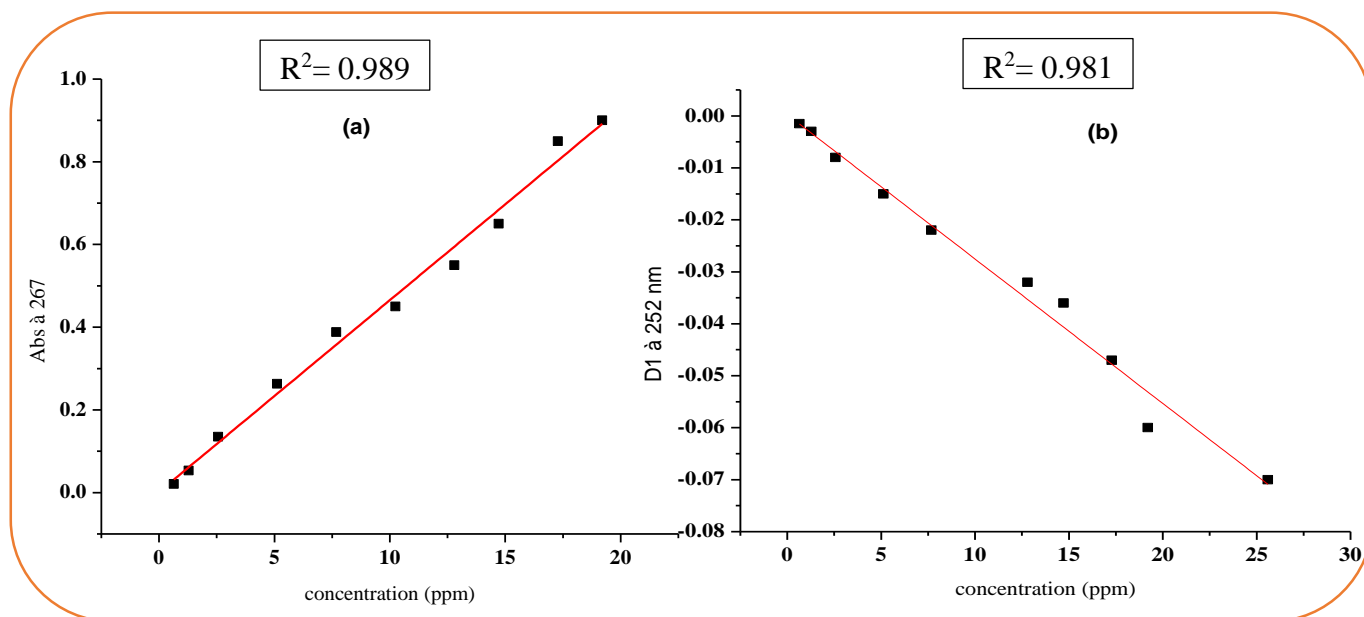


Figure N°II-8 : Courbes étalonnages d'OND pur [(a)Abs en fonction de C et (b) D1 en fonction de C].

Tableau N°II-5 : Les caractéristiques de régression linéaire de l'ondansétron, à 252 nm et 267 nm

Les caractéristiques de régression linéaire	Ondansétron	
	267 (Abs)	252 (D1)
Longueur d'onde (nm)	267 (Abs)	252 (D1)
Gamme concentration (mg/l)	0.64-25.6	
La pente	0.04635	-0.00278
Erreur de la pente	0.00157	0.000127311
L'ordonné à l'origine	0.00179	0.0002523
Erreur d'ordonné à l'origine	0.01753	0.00171
Coefficient de corrélation	0.989	0.981

D'après le tableau au-dessus, nous avons obtenu des bons coefficients de corrélation pour l'analyse de l'ondansétron dans le cas des courbes étalonnages de D1 à 252 nm et d'abs à 267 nm.

II-B-3-2 Courbes étalonnages d'un principe actif en présence de l'autre

✓ Dans le cas d'OND en présence du GRN

La figure N°II-9 représente les courbe d'étalonnages du mélange l'une (a)obtenue par les spectres d'ordre un à 252 nm et l'autre (b) est obtenue à partir les spectres d'ordre un à 301 nm et le Tableau N°II-6 présente les caractéristiques de régressions linéaires du mélange.

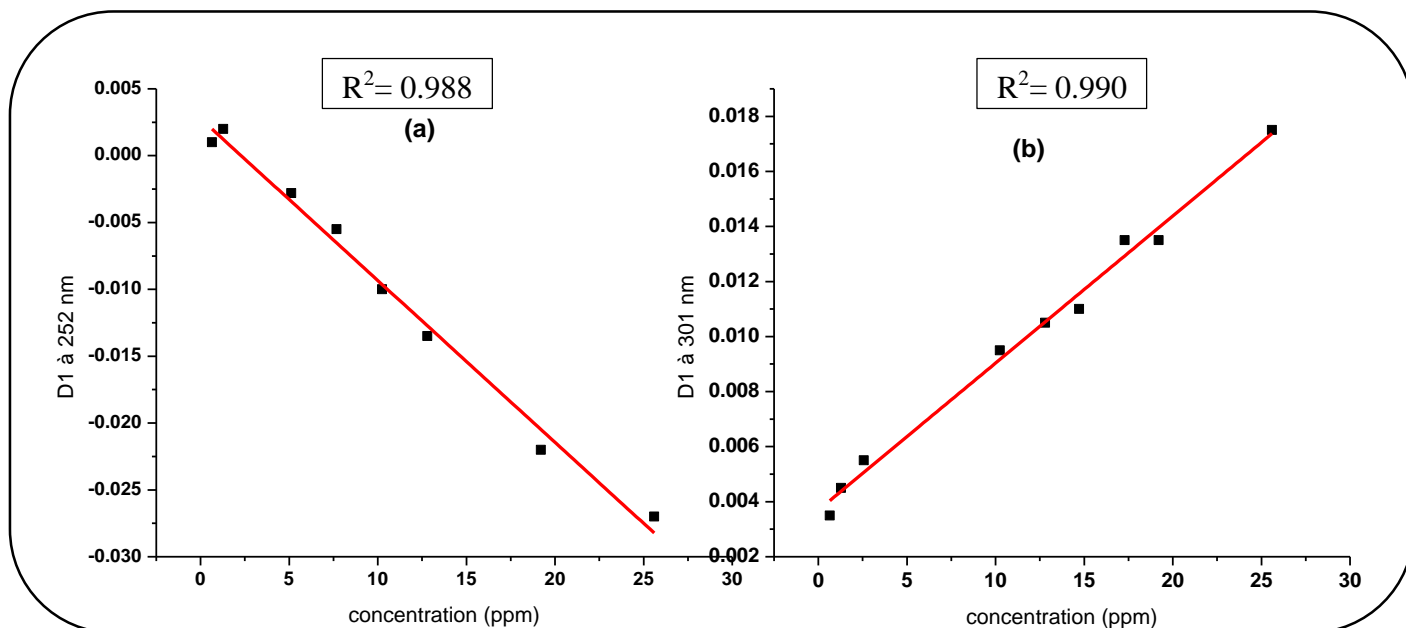


Figure N°II-9 : Courbe d'étalonnage des D1 pour l'OND en présence de GRN.

Tableau N°II-6 : Les caractéristiques de régressions linéaires de l'OND en présence de GRN.

Les caractéristiques de régression linéaire	Mélange GRN fixe et OND varie			
	301 (D1)	Point d'annulation de GRN	252 (D1)	Point d'annulation de GRN
Longueur d'onde (nm)	301 (D1)		252 (D1)	
Gamme concentration (mg/l)	0.64-25.6			
La pente	0.000534336		-0.00121	
Erreur de la pente	0.00018591		0.000049013	
L'ordonné à l'origine	0.0037		0.00277	
Erreur d'ordonné à l'origine	0.000264124		0.00064372	
Coefficient de corrélation	0.9904		0.988	

A partir le **tableau N°II-6**, nous avons observé que les courbes d'étalonnages de la dérivée premier ordre à 252 nm et à 301 présentent de très bons coefficients de corrélation pour l'analyse de l'OND en présence du GRN, donc la détermination de l'OND dans la formulation pharmaceutique sera effectuée à 252 et 301 nm.

✓ **Dans le cas de GRN en présence de l'OND**

La **figure N°II-10** représente les courbe d'étalonnages du mélange l'une (a) obtenue par les spectres d'ordre un à 283 nm et l'autre (b) est obtenue à partir les spectres d'ordre un à 310 nm et le **Tableau N°II-7** présente les caractéristiques de régressions linéaires du mélange.

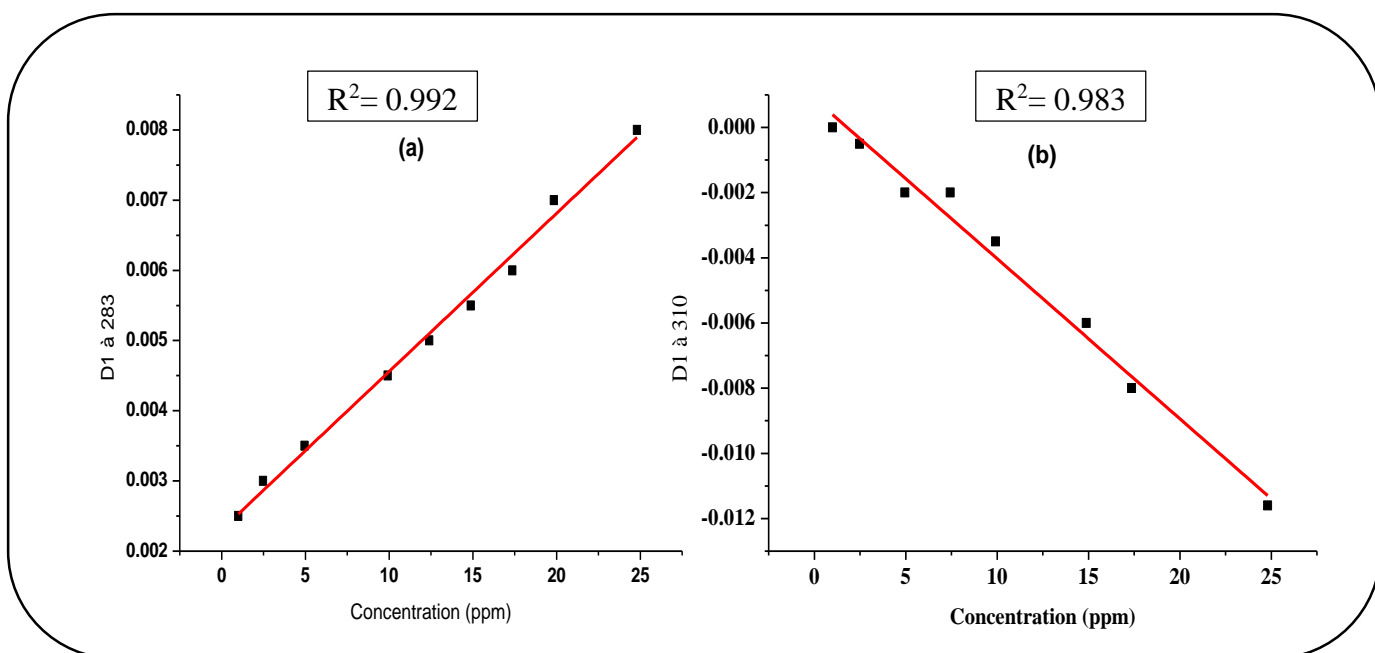


Figure N°II-10 : Courbe d'étalonnage de GRN en présence de l'OND

Tableau N°II-7 : Les caractéristiques de régressions linéaires du GRN en présence d'OND

Les caractéristiques de régression linéaire	Mélange OND fixe et GRN varie			
	310 (D1)	Point d'annulation	283 (D1)	Point d'annulation
Longueur d'onde (nm)	310 (D1)	Point d'annulation	283 (D1)	Point d'annulation
Gamme concentration (mg/l)	0.992-24.8			
La pente	-0.000491124		0.000225382	
Erreur de la pente	0.0000240575		0.00000679048	
L'ordonné à l'origine	0.000885102		0.0023	
Erreur d'ordonné à l'origine	0.000309412		0.000964405	
Coefficient de corrélation	0.983		0.992	

Les autres courbes et leurs régressions linéaires sont regroupées dans **l'annexe 01**.

D'après avoir le **Tableau N°II-7**, nous avons remarqué que les courbes d'étalonnages de D1 à 283 nm et 310 nm présentent des bons coefficients de corrélation pour l'analyse de le GRN en présence de l'OND, donc la détermination du GRN dans la formulation pharmaceutique sera effectué à 283 et 310 nm.

II-B-4 Etude statistique

II-B-4-1 Justesse d'une méthode

Le tableau suivant présente des résultats de l'étude de la justesse obtenus par le calcul de l'amplitude à la longueur d'onde choisie après la détermination de courbes dérivées et absorption pour des concentrations choisies.

Tableau N°II-8 : résultat de l'étude de la justesse

OND	Abs à 310		Abs à 267		D1 à 274		D1 à 252	
C prép	C trouver	r (%)	C trouver	r (%)	C trouver	r (%)	C trouve	r (%)
17.28	18.796	108.773	17.269	99.935	18.887	109.297	17.860	103.359
10.24	12.022	117.40	11.128	108.677	11.701	114.274	11.313	110.486
1.28	1.042	81.400	1.307	102.160	0.189	14.771	1.169	91.397
GRN	Abs à 301		D1 à 319		D1 283			
C prép	C trouver	r (%)	C trouver	r (%)	C trouver	r (%)		
17.36	16.042	92.410	15.799	91.008	16.651	95.917		
9.92	9.525	96.023	8.973	90.459	9.539	96.162		
1.488	1.853	124.582	0.8254	55.473	1.730	116.268		

Nous remarquons aussi que

- pour le GRN, les meilleures valeurs de justesse de la méthode sont obtenues pour les concentrations 9.92 ppm et 17.36 ppm dans le cas des spectres d'ordre zéro et d'ordre 1 (pour les deux longueurs d'onde). Cependant la meilleure justesse est obtenue dans le cas du spectre dérivé à 283 nm pour la concentration de 9.92 ppm.
- Pour l'OND :
 - Dans le cas de l'absorption d'ordre zéro à 267 nm et de la dérivée 1^{ère} à 252 nm, nous avons trouvé une bonne justesse pour toutes les concentrations, avec la meilleure est obtenue à 267 nm pour la concentration de 17.28 ppm (r%= 99.935).
 - Dans le cas de l'absorption d'ordre zéro à 310 nm et de la dérivée 1^{ère} à 274 nm, une bonne justesse est observée pour la même concentration (17.28 ppm).

➤ Conclusion

Ces résultats montrent globalement que la justesse de la méthode est acceptable. Notamment dans le cas :

- Du GRN, à 283 nm (D1) pour la concentration de 9.92ppm.
- De l'OND, à 267 nm (ordre zéro) et à 252 nm (D1) pour la concentration de 17.28 ppm.

II-B-4-2 L'étude de la précision de la méthode pour le granisétron

Les tableaux suivants présentent deux exemples des résultats obtenus de l'étude de la précision pour le granisétron, le **tableau N°II-9** pour l'ordre zéro à 301 nm et **tableau N°II-10** pour l'ordre un à 283 nm .Les autres tableaux sont regroupés dans l'**annexe 2**.

Tableau N°II-9 : résultat d'étude statistique de la précision d'ordre zéro pour le granisétron.

1er jour		Absorbance à 301 nm								
17.36 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	0.591	0.575	0.589	0.576	0.584	0.583	0.00731437	0.012546088	1.25460882
	Lecteur 2	0.585	0.569	0.577	0.57	0.581	0.5764	0.00691375	0.011994716	1.19947162
	Moy du j	0.588	0.572	0.583	0.573	0.582	0.57975	0.00692459	0.011945133	1.19451334
	E.T	0.00424264	0.00424264	0.00848528	0.00424264	0.00212132	0.004666905			
	CV	0.00721538	0.0074172	0.01455451	0.00740426	0.00364175	0.008050552			
	CV %	0.72153753	0.7417204	1.45545135	0.74042595	0.36417517	0.805055159			

Tableau N°II-10 : résultat d'étude statistique de la précision d'ordre un pour le granisétron

1eme jour		D1 à 283 nm								
17.36 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	1.15E-02	0.011	0.0115	0.01	0.0105	0.0109	0.0006519	0.0598092	5.9809196
	Lecteur 2	0.01	0.0105	0.0105	0.0125	0.0105	0.0108	0.0009747	0.0902481	9.0248096
	Moy du j	0.01075	0.01075	0.011	0.01125	0.0105	0.01085	0.000285	0.0262713	2.6271323
	E.T	0.0010607	0.0003536	0.0007071	0.0017678	0	7.071E-05			
	CV	0.0986661	0.0328887	0.0642824	0.1571348	0	0.0065171			
	CV %	9.8666062	3.2888687	6.4282435	15.713484	0	0.6517113			

✓ **reproductibilité et répétabilité**

Les **tableaux N°II-11** et **N°II-12** présentent respectivement les coefficients des variations de la reproductibilité et de la répétabilité pour l'ordre zéro et l'ordre un, pour les trois jours.

Tableau N°II-11 : Les valeurs de coefficient de variation de répétabilité et reproductibilité d'ordre zéro pour le GRN

		Intra-day			Inter-day
Abs à 301 nm		1 ^{er} jour	2 ^{ème} jour	3 ^{ème} jour	
CV %	CV	0.80	0.51	2.27	1.19
	Reproductibilité				
	CV répétabilité	1.19	1.74	2.74	1.89

Tableau N°II-12 : Les valeurs de coefficient de variation de répétabilité et reproductibilité de l'ordre un pour le GRN.

D1		283 nm		319 nm	
	CV	CV	CV	CV	CV
		Reproductibilité	répétabilité	Reproductibilité	répétabilité
Intra-day	1 ^{er} jour	0.65	2.62	1.05	1.00
	2 ^{ème} jour	1.90	3.75	1.12	2.79
	3 ^{ème} jour	1.99	3.56	2.22	1.68
Inter-day		1.51	3.31	1.46	1.82

A partir de ces tableaux nous avons remarqué que :

- ❖ dans le cas de la reproductibilité et la répétabilité intra-day :
 - A 301 nm pour la méthode d'ordre zéro,
 - Les coefficients des variations de la reproductibilité pour les trois jours sont inférieurs à 3%. Ces résultats indiquent qu'à 301 nm la méthode de est précise de 97.73% à 99.2%.
 - Les C.V(%) de la répétabilité sont inférieurs à 3%, ces résultats indiquent qu'à 301 nm la méthode est précise de 97.26% à 98.81%.
 - pour la méthode d'ordre un.
 - A 283 nm
 - Les coefficients des variations de la reproductibilité pour les trois jours sont inférieurs à 2%. Ces résultats indiquent qu'à 283 nm la méthode de dérivative est précisée (98.01%-99.35%).

- Les C.V(%) de la répétabilité pour la dérivative sont inférieurs à 4%, ces résultats indiquent qu'à 283 nm la méthode de dérivative est précise de 96.25% à 97.38%.
- A 319 nm
 - Les coefficients des variations de la reproductibilité pour les trois jours sont inférieurs à 3%. Ces résultats indiquent qu'à 319 nm la méthode de dérivative est précisée (97.78%-98.95%).
 - Tous les C.V(%) de la répétabilité pour les 3 jours sont inférieurs à 3%, ces résultats indiquent qu'à 319 nm la méthode de dérivative est précise de 97.21% à 99%.
- ❖ Dans le cas reproductibilité et répétabilité inter-day
 - La méthode d'ordre zéro à 301 nm est reproductible à 98.81% et répétable à 1.89% pré.
 - La méthode d'ordre un
 - À 319 nm, est reproductible à 98.54% et répétable à 1.82 prés.
 - A 283 nm, est reproductible à 98.49% et répétable à 3.31 prés.

II-B-4-3 L'étude la précision de la méthode pour l'ondansétron

Les résultats de l'étude de la précision d'analyse spectrophotométrie UV du premier jour pour le ondansétron à 252 nm, le **tableau N°II-13** pour l'ordre zéro et **tableau N°II-14** pour l'ordre un .Les autres tableaux sont regroupés dans **l'annexe 2**.

Tableau N°II-13 : résultat d'étude statistique de la précision d'ordre zéro pour l'OND.

1 ^{er} jour		Absorbance à 267 nm									
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%	
	Lecteur 1	0.77	0.773	0.825	0.79	0.801	0.7918	0.02246553	0.028372732	2.83727319	
	Lecteur 2	0.768	0.769	0.805	0.78	0.791	0.7826	0.0156301	0.019972015	1.99720153	
	Moy du j	0.769	0.771	0.815	0.785	0.796	0.7872	0.01903155	0.024176261	2.41762611	
	E.T	0.00141421	0.00282843	0.01414214	0.00707107	0.00707107	0.006505382				
	CV	0.00183903	0.00366852	0.01735231	0.00900773	0.00888325	0.008263951				
	CV %	0.18390293	0.36685177	1.73523136	0.90077297	0.8883251	0.82639512				

Tableau N°II-14 : résultat d'étude statistique de la précision de l'ordre un pour l'ondansétron

1 ^{er} jour		Dérivée à 252 nm								
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	- 0.0 45	- 0.0455	- 0.0475	-0.045	- 0.0 465	- 0.0459	0.0010 8397	- 0.0236 1599	- 2.3615 995
	Lecteur 2	- 0.0 45	-0.045	-0.047	- 0.0445	- 0.0 465	- 0.0456	0.0010 8397	- 0.0237 7136	- 2.3771 3634
	Moy du j	- 0.0 45	- 0.0452 5	- 0.0472 5	- 0.0447 5	- 0.0 465	- 0.0457 5	0.0010 7529	- 0.0235 0362	- 2.3503 6209
	E.T	0	0.0003 5355	0.0003 5355	0.0003 5355	0	0.0002 1213			
	CV	0	- 0.0078 1333	- 0.0074 8261	- 0.0079 0063	0	- 0.0046 3677			
	CV %	0	- 0.7813 3346	- 0.7482 6114	- 0.7900 6344	0	- 0.4636 7658			

✓ **répétabilité et reproductibilité**

Le **tableau N°II-15** présente les coefficients des variations de la répétabilité et reproductibilité de spectrophotométrie UV d'ordre zéro et d'ordre un, pour les trois jours.

Tableau N°II-15 : Les valeurs de coefficient de variation de répétabilité et reproductibilité d'ordre zéro et d'ordre un pour l'OND

Abs		267 nm		310 nm	
	CV	CV reproductibilité	CV répétabilité	CV reproductibilité	CV Répétabilité
Intra-day	1^{er} jour	0.82	2.41	0.63	2.15
	2^{ème} jour	1.91	2.57	1.63	2.72
	3^{ème} jour	2.08	3.80	1.59	3.25
Inter-day		1.60	2.92	1.28	2.70
D1		252 nm		274 nm	
	CV	CV reproductibilité	CV répétabilité	CV Reproductibilité	CV Répétabilité
Intra-day	1^{er} jour	0.46	2.35	1.51	3.07
	2^{ème} jour	0.77	3.16	0.95	3.17
	3^{ème} jour	4.45	3.79	2.94	3.27
Inter-day		1.89	3.10	1.80	3.17

Tableau N°II-16 : résultats de répétabilité et reproductibilité de l'ordre zéro et l'ordre un Pour l'ondansétron.

		A 267 nm	A 310 nm
Absorbance	CV (Reproductibilité)	< 3%	
	CV (Répétabilité)	< 5 %	< 5 %
		A 252 nm	A 274 nm
Dérivative	CV (Reproductibilité)	< 5%	< 3%
	CV (Répétabilité)	< 5 %	< 5%

A partir le **tableau N°II-15** et **N°II-16**, nous avons trouvé que :

- ❖ dans le cas de la reproductibilité et la répétabilité intra-day :
 - la méthode d'absorption est reproductible entre 97.92%-99.18% à 267nm, et entre 98.37%-99.37% à 310 nm.
 - Pour la répétabilité, la méthode d'absorption est répétable entre 96.2%-97.59% à 267 nm, et entre 96.75%-97.85% à 310 nm

- Pour la méthode dérivative, la répétabilité est entre 96.73%-96.93% à 274 nm et entre 96.21% - 97.65% à 252. Cependant la reproductibilité de cette méthode, est obtenue entre 97.06%- 99.05% à 274 nm, et 95.55%-99.54% à 252 nm.
- ❖ Dans le cas reproductibilité et répétabilité inter-day
 - La méthode d'ordre zéro
 - A 310 nm est reproductible à 98.72% et répétable à 2.70% prés.
 - A 267 nm est reproductible à 98.40% et répétable à 2.92% prés
 - La méthode d'ordre un
 - À 252 nm, est reproductible à 98.11% et répétable à 3.10 prés.
 - A 274 nm, est reproductible à 98.20% et répétable à 3.17 prés.

Conclusion

Ces résultats montrent globalement que les méthodes d'ordre zéro et d'ordre un sont précises. Notamment dans le cas

- Reproductibilité et répétabilité pour la méthode d'ordre zéro :
 - une bon reproductibilité et répétabilité intra-day est obtenu à 301 nm (GRN) et à 310nm (OND). Cependant la reproductibilité et répétabilité inter-day est trouvée à 301 nm pour GRN et à 310 nm pour OND, donc la méthode est plus précise à ces dernières longueurs d'ondes.
- Reproductibilité et répétabilité pour la méthode d'ordre un :
 - La meilleure reproductibilité intra-day est obtenue à 283 nm (GRN) et à 274nm (OND) .mais la répétabilité intra-day est obtenu à 319nm (GRN) et à 252 nm
 - La meilleur reproductibilité et répétabilité inter-day est trouvée à 319nm pour GRN et à 252, 274 nm pour OND, donc la méthode est plus précise à ces longueurs d'ondes.

II-B-5 Application

II-B-5-1 détermination de GRN et OND dans la formulation pharmaceutique

La détermination des valeurs du granisétron dans formulation préparée et ondansétron (injectable) sera effectué à partir les courbes d'étalonnages de chaque composé pur à longueur d'onde caractéristique. Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau N°II-17**,

Tableau N°II-17 : les résultats de la détermination de GRN et d'OND dans la formulation Pharmaceutique.

Granisétron				
Echantillon	Déclarer	Trouver (D'ordre un à 283 nm)	Déclarer	Trouver (d'ordre zéro à 301 nm)
Masse (mg)	1	1.03 ± 0.004678	1	1.068 ± 0.0039058
Rendement	103 %		106.8 %	
Ondansétron injectable				
Echantillon	Déclarer	Trouver (D'ordre un à 252 nm)	Déclarer	Trouver (d'ordre zéro à 267 nm)
Concentration (g/l)	2	2.055 ± 0.01367986	2	1.972 ± 0.0022363
Rendement	102.75 %		98.6 %	

Pour le GRN et l'OND, les résultats montrent que la valeur trouvée à partir des courbes d'étalonnages (ordre 1 et ordre zéro) de chaque composé pur est proche de celle déclarée. La meilleure valeur est obtenue dans le cas d'ordre zéro à 283 nm (103%) pour le GRN et d'ordre zéro à 267 nm (98.6%) pour l'OND.

Par la comparaison avec d'autres résultats, nous avons trouvé que nos résultats sont comparables [22].

II-B-5-2 détermination de GRN et OND dans les mélanges formulés

La détermination des valeurs du granisétron et ondansétron dans les mélanges constitués sera effectuée à partir des courbes d'étalonnage du mélange. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau **tableaux N°II-18**

Tableau N°II-18 : les résultats de détermination de GRN et d'OND dans le mélange.

Granisétron (mélange)		
Echantillon	Déclarer	Trouver (D'ordre un à 283nm)
Masse (mg)	1	1.06 (± 0.04336)
Rendement		106%
Ondansétron (mélange)		
Echantillon	Déclarer	Trouver (D'ordre un à 301nm)
Concentration (g/l)	2	2.021 (± 0.066139)
Rendement		101%

Les résultats montrent que la valeur trouvée à partir le courbe étalonnage de mélange est proche à celle déclarée. Nous pouvons conclure que les résultats sont acceptables. Mais le rendement d'OND est meilleur que le GRN.

Conclusion générale

La spectroscopie UV-visible d'ordre zéro et d'ordre supérieur (spectroscopie dérivés) est une technique analytique qui permet la détermination ou le dosage des principes actifs. Son application dans l'analyse des médicaments présents dans les formulations pharmaceutiques est très sollicitée. En effet, la méthode est simple à mettre en œuvre et l'appareillage est largement disponible et moins coûteux.

Dans le présent mémoire, nous nous sommes intéressés à l'analyse de deux principes actifs : l'ondansétron et le granisétron qui sont préconisés au traitement anti-émétique dans les cas de la prévention des effets secondaires (vomissement) relatifs à la chimiothérapie et à la radiothérapie.

Nous avons réalisé des spectres d'ordre zéro et d'ordre un pour chaque molécule seule et dans le cas du mélange en fixant la concentration de l'un et en variant la concentration de l'autre.

A partir de ces spectres obtenus nous avons déterminé les longueurs d'ondes caractéristiques dans les deux cas, puis tracé des courbes étalonnages aux longueurs d'ondes qui sont représentées dans le tableau suivant :

	GRN	OND	OND en présence de GRN	GRN en présence d'OND
λ (nm) Absorption (ordre zéro)	301	249, 267,310		
λ (nm) Dérivée (ordre un)	319,283	252, 274, 322	301,252 (point d'annulation de GRN)	283,310 (point d'annulation d'OND)

A ces longueurs d'ondes, les courbes d'étalonnages ayant, des bonnes corrélations, dont les coefficients de corrélation sont trouvés entre :

- 0.983-0.998 pour le GRN
- 0.981-0.997 pour l'OND

Une étude statistique a été réalisée pour déterminer la précision et la justesse des deux méthodes. Pour ce faire, nous avons déterminé la reproductibilité et la répétabilité intra-day et inter-day (précision), et le taux de recouvrement (justesse) pour les deux composés. D'après les résultats obtenus nous pouvons dire que :

- La meilleure précision de la méthode est obtenue pour :
 - L'ordre zéro, reproductible à 98.81%, répétable à 1.89% près pour le granisétron à 301nm et reproductible à 98.72%, répétable à 2.70% près pour l'ondansétron à 310 nm.
 - L'ordre un, reproductible à 98.54%, répétable à 1.82% près pour le granisétron à 319 nm et reproductible à 98.11%, répétable à 3.10% près pour l'ondansétron à 252 nm.
- Bon justesse de la méthode est obtenue pour :
 - Le GRN, à 283 nm (ordre un) et à 301 (ordre zéro) pour la concentration de 9.92ppm.
 - L'OND, à 267 nm (ordre zéro) et à 252 nm (D1) pour la concentration de 17.28 ppm

Les deux méthodes retenues ont été appliqué au dosage de ces deux principes actifs dans la formulation pharmaceutique et ceci pour les deux cas :

- 1^{er} cas les principes actifs seuls : nous avons obtenu un taux de recouvrement acceptable, avec un bon taux est égale à 103% (ordre un à 283 nm) pour le GRN et à 98.6%(ordre zéro à 267 nm) pour l'OND.
- 2^{ième} cas les principes combinés : nous avons obtenu un bon taux de recouvrement est égale à 106% (ordre un à 283 nm) pour GRN et à 101% (ordre un à 301 nm) pour l'OND.
- D'après les résultats obtenus au-dessus, nous peuvent doser le GRN et l'OND dans la formulation pharmaceutique sous forme seul par l'UV-Vis d'ordre zéro ou simultanément sous forme combiné (l'un en présence de l'autre) par l'UV-Vis d'ordre un.

Reference

[1]	DAVID GUERIN, 'La Granulation Humide dans l'industrie pharmaceutique : revue bibliographique sur les matériels, les méthodes et les paramètres de mise au point du procédé de granulation humide', thèse de doctorat ; Université de Nantes Faculte De Pharmacie, 2006
[2]	L'industrie pharmaceutique en Belgique, Revue, ISSN 0008-9664, n° 598-599 pages 1 à 48,
[3]	Lena Ohannesian – Anthony J. Streeter, Handbook of pharmaceutical analysis, Livrevol 117,Marcel Dekker, Inc.Edition2002, 217,P586.
[4]	Mémoire master en Génie Chimique, Etude vérificative de la validité des concentrations de quelques composés actifs dans les médicaments commercialisés, P2, 2014universités d'Eouad
[5]	D. FOURRIER-REGLAT Karin LATRY et al, Pharmacologie Générale, Edition, Copyright ISBN N° 2-909176-24-X 2006.
[6]	Mémoire licence en biologie, Additifs alimentaire Usage technologique et risques sanitaires, P3, 2013, université Ouargla
[7]	Niranjan N. Singh, AjiteshRai, John B. Selhorst, and Jayant N. Acharya, Ondansétron and seizures,Epilepsia, 50(12):2663–2666, 2009
[8]	Thèse de doctorat en Sciences Médicales, Association Trastuzumab-VinorelbineEn Première Ligne Metastatique Dans Le Cancer Du Sein Surexprimant Her2/Neu ,P81, 2016, université d'Oran
[9]	Laurent Grélot, Armand Louis Bianchi 'Physiopathologie des vomissements en chimiothérapie oncologique', Médecine Thérapeutique 3(3):149-157 · January 1997
[10]	MONOGRAPHIE DE PRODUIT ratiopharm inc. Canada M1B 2K9 N°: 158985 2012 p14
[11]	Sunita Dahiya, Sachin Asati And Vivek Mallurwar,Formulation and evaluation of granisetron hydrochloride orodispersible tablets Bulletin of pharmaceutical research 2011;1(2):41-6
[12]	Martine Rebstein,(Chantal soerenan), chimie avancé- spectroscopie moléculaire : structure moléculaires et analyse spectrale, Livre Ed 2008
[13]	J. Joseph-Charles, M. Bertucat, P. Levillain, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1997, 136, 56-76
[14]	Brode, W.R., Chemical spectroscopy,Livre,2 nd ed.New York. Wiley, 1943; 206
[15]	Giese (A. T.), French (C. S.) - The analysis of overlapping spectral absorption bands by derivative spectrophotometry- Appl. Spectroscopy,Livre, 1955, 9, 78-96.
[16]	Gerhard Talsky, Derivative spectrophotometry :low and Higerordre,Livre, VCH, 1994, 33-35, p.223
[17]	Joanna Karpinska, Derivative spectrophotometry—recent applications and directions of developments; Review,Institute of Chemistry, University of Białystok,Poland, Elsevier, 2004.
[18]	R. Chandra1, K. Dutt, Sharma Department of Pharmaceutical Chemistry, Article Dolphin P.G. Institute of Biomedical and Natural Sciences, Dehradun-248001, Uttarakhand, INDIA, 2013.
[19]	S. Nussbaumer, Analyse de médicaments produits en milieu hospitalier : application aux composés non-UV absorbant cytotoxique, Livre Centre d'édition des hôpitaux universitaire de Genève, N°4332/20011-217.
[20]	H. Reginald, M. Charles, Biochimie.Livre2 ^{ème} édition.Amerique: de boeck, 2000; 157.
[21]	A. Liguori et al, Absorption and subjective effects of caffeine from coffee, cola and capsules, PharmacolBiochemBehav, 1997; 58; 721-726,
[22]	S. AngayerKanchana et al,Spectrophotometric Estimation Of Granisetron In Bulk And Tablet Formulation, Article Int. J. Chem. Sci; 8(2), 2010, 1169-1173.

Annexe 01 : la courbe d'étalonnage d'ordre zéro et d'ordre un

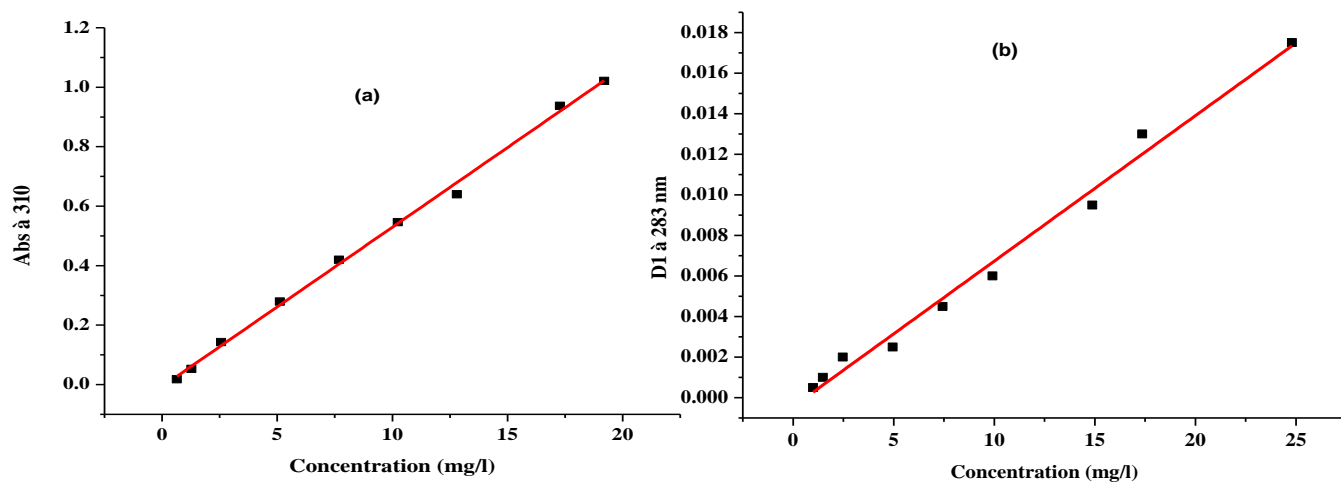


Figure N°1 : Courbes étalonnages : (a) d'ordre zéro pour OND, (b) d'ordre un pour GRN

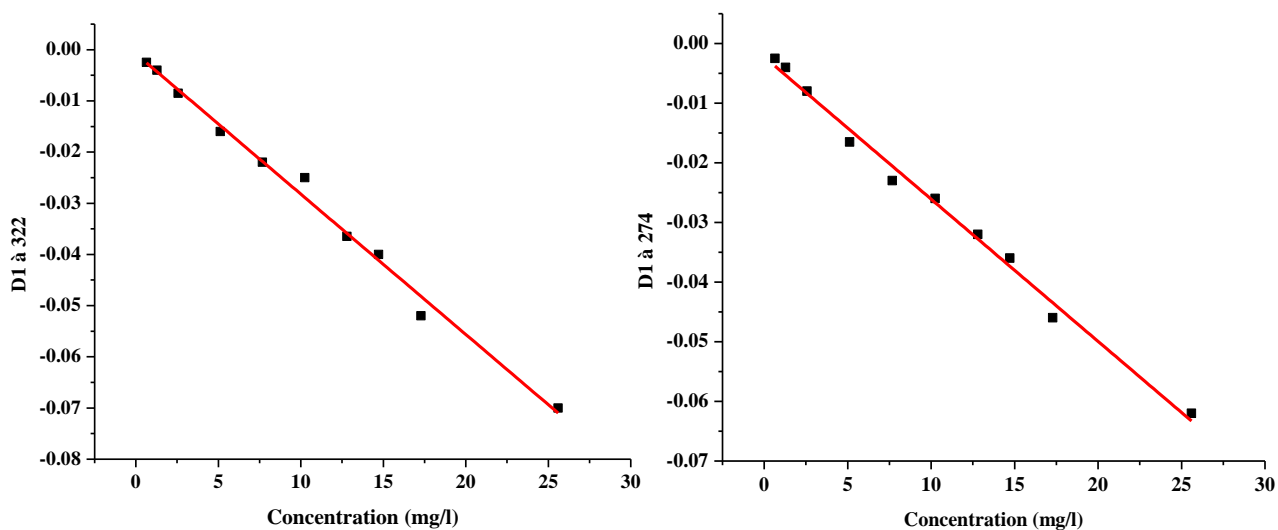


Figure N°2 : Courbes d'étalonnages d'ordre un pour l'ondansétron à 322 nm et 274 nm

Tableau Les caractéristiques de régression linéaire de granisétron et ondansétron :

Spectre	Principe actif	$\lambda(nm)$	La pente	Ordonné à l'origine	Coefficient de corrélation
d'ordre zéro	ondansétron	310	0.05358 (± 0.000987238)	-0.0064 (± 0.01056)	0.997
d'ordre un	granisétron	283	0.000717099 (± 0.000029032)	-0.00044063 (± 0.000352332)	0.987
	ondansétron	322	-0.00274 (± 0.0000863436)	-0.0008543 (± 0.00107)	0.991
		274	-0.00238 (± 0.000073132)	-0.00225 (± 0.000905519)	0.991

Annexe 02 : Etude statistique

Pour le granisétron :

Tableaux des résultats d'études statistiques d'ordre zéro à 301nm

2eme jour		Absorbance à 301 nm								
17.36ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	0.58	0.596	0.606	0.578	0.574	0.586	0.013	0.023	2.319
	Lecteur 2	0.556	0.577	0.596	0.56	0.552	0.568	0.018	0.032	3.207
	Moy du j	0.568	0.586	0.601	0.569	0.563	0.577	0.015	0.027	2.746
	E.T	0.016	0.013	0.007	0.012	0.015	0.013			
	CV	0.029	0.022	0.011	0.022	0.027	0.022			
	CV %	2.987	2.290	1.176	2.236	2.763	2.277			

3eme jour		Absorbance à 301 nm								
17.36 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	0.574	0.584	0.5	0.582	0.575	0.5824	0.0092	0.0158	1.5858
	Lecteur 2	0.571	0.574	0.5	0.58	0.569	0.5782	0.0113	0.0195	1.9544
	Moy du j	0.5725	0.579	0.5	0.581	0.572	0.5803	0.0101	0.0174	1.7463
	E.T	0.0021	0.0070	0	0.0014	0.0042	0.0029			
	CV	0.0037	0.0122	0	0.0024	0.0074	0.0051			
	CV %	0.3705	1.2212	0	0.2434	0.7417	0.5117			

Tableaux des résultats d'études statistique d'ordre un à 283nm

2 éme jour		Dérivative à 283 nm									
17.36 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%	
	Lecteur 1	0.0115	0.0105	0.0125	0.0115	0.0115	0.0113	0.00057009	0.05045024	5.045024	
	Lecteur 2	0.0115	0.0115	0.0115	0.0105	0.0115	0.01135	0.00035355	0.03214122	3.21412173	
	Moy du j	0.01125	0.01075	0.01175	0.01075	0.01125	0.01115	0.00041833	0.03751839	3.75183868	
	E.T	0.00035355	0.00035355	0.00035355	0.00035355	0.00035355	0.00021213				
	CV	0.03142697	0.03288869	0.03008965	0.03288869	0.03142697	0.01902529				
	CV %	3.14269681	3.28886875	3.00896503	3.28886875	3.14269681	1.90252946				

3eme jour		Dérivative à 283 nm									
17.36 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%	
	Lecteur 1	0.0105	0.0105	0.0115	0.0105	0.0115	0.0108	0.00044721	0.04140867	4.14086662	
	Lecteur 2	0.0105	0.0105	0.0105	0.0115	0.0105	0.0105	0.00061237	0.05832118	5.83211844	
	Moy du j	0.01025	0.01025	0.01075	0.0115	0.0115	0.01065	0.00037914	0.03560035	3.56003542	
	E.T	0.00035355	0.00035355	0.00035355	0.00070711	0.00070711	0.00021213				
	CV	0.03449301	0.03449301	0.03288869	0.06428243	0.06428243	0.0199185				
	CV %	3.44930137	3.44930137	3.28886875	6.42824347	6.42824347	1.99185009				

Tableaux des résultats d'études statistique d'ordre un à 319nm

2eme jour		Dérivée à 319 nm								
17.36 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	-0.0315	-0.0295	-0.0305	-0.035	-0.035	-0.033	0.00057009	-0.01881478	-1.8814776
	Lecteur 2	-0.0305	-0.0285	-0.0315	-0.0295	-0.0305	-0.02982	0.00115629	-0.03877556	-3.87755587
	Moy du j	-0.03075	-0.02875	-0.03075	-0.02975	-0.0303	-0.03006	0.00083994	-0.02794213	-2.79421315
	E.T	0.00035355	0.00106066	0.00035355	0.00035355	0.00028284	0.00033941			
	CV	-0.01149767	-0.03689253	-0.01149767	-0.01188415	-0.00933474	-0.01129113			
	CV %	-1.14976712	-3.68925277	-1.14976712	-1.18841476	-0.9334743	-1.12911262			

3eme jour		Dérivée à 319 nm								
17.36 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	-0.0275	-0.0285	-0.0295	-0.0285	-0.0285	-0.0281	0.00054772	-0.01949191	-1.9491906
	Lecteur 2	-0.0285	-0.0295	-0.0295	-0.0285	-0.0295	-0.0295	0.0005	-0.01724138	-1.72413793
	Moy du j	-0.028	-0.02875	-0.02925	-0.02825	-0.0285	-0.02855	0.00048088	-0.01684359	-1.68435937
	E.T	0.00070711	0.00106066	0.00035355	0.00035355	0.00070711	0.000636396			
	CV	-0.02525381	-0.03689253	-0.0120873	-0.01251516	-0.02481076	-0.02229058			
	CV %	-2.52538136	-3.68925277	-1.20872954	-1.25151643	-2.48107643	-2.22905815			

Pour l'ondansétron :

Tableaux des résultats d'études statistique d'ordre zéro à 267 nm

2eme jour		Absorbance à 267 nm								
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	0.82	0.77	0.825	0.8	0.822	0.8074	0.02310411	0.028615447	2.86154473
	Lecteur 2	0.774	0.758	0.812	0.79	0.795	0.7858	0.02062038	0.026241255	2.62412551
	Moy du j	0.797	0.764	0.8185	0.795	0.8085	0.7966	0.02053473	0.025777965	2.57779647
	E.T	0.03252691	0.00848528	0.00919239	0.00707107	0.01909188	0.015273506			
	CV	0.04081168	0.01110639	0.01123077	0.00889442	0.02361396	0.01917337			
	CV %	4.08116837	1.11063892	1.12307736	0.88944249	2.36139556	1.917336991			

3eme jour		Absorbance à 267 nm								
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	0.742	0.74	0.798	0.75	0.778	0.7616	0.02539291	0.033341534	3.33415341
	Lecteur 2	0.776	0.78	0.829	0.73	0.806	0.7842	0.03709717	0.047305751	4.73057507
	Moy du j	0.759	0.76	0.8135	0.74	0.792	0.7729	0.02939047	0.038026232	3.80262319
	E.T	0.02404163	0.02828427	0.02192031	0.01414214	0.01979899	0.015980613			
	CV	0.0316754	0.03721615	0.02694568	0.01911099	0.02499872	0.020676172			
	CV %	3.16754026	3.72161464	2.69456794	1.91109941	2.49987246	2.067617189			

Tableaux des résultats d'études statistique d'ordre zéro à 310 nm

2eme jour		Absorbance à 310 nm								
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	0.801	0.802	0.857	0.84	0.839	0.8278	0.02505394	0.030265694	3.02656944
	Lecteur 2	0.827	0.833	0.881	0.836	0.859	0.8472	0.0224544	0.026504247	2.65042472
	Moy du j	0.814	0.8175	0.869	0.838	0.849	0.8375	0.02278706	0.027208427	2.72084271
	E.T	0.01838478	0.02192031	0.01697056	0.00282843	0.01414214	0.013717872			
	CV	0.02258572	0.02681384	0.01952884	0.00337521	0.0166574	0.016379548			
	CV %	2.25857203	2.68138351	1.95288409	0.33752114	1.66574036	1.637954813			

3eme jour		Absorbance à 310 nm								
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	0.907	0.83	0.892	0.87	0.893	0.8784	0.03012142	0.034291235	3.42912351
	Lecteur 2	0.89	0.816	0.872	0.86	0.856	0.8588	0.02733496	0.031829249	3.18292493
	Moy du j	0.898	0.823	0.882	0.865	0.874	0.8686	0.02828736	0.032566618	3.25666183
	E.T	0.01202082	0.00989949	0.01414214	0.00707107	0.02616295	0.013859293			
	CV	0.01337876	0.01202855	0.01603417	0.00817464	0.02991761	0.015955898			
	CV %	1.33787594	1.20285479	1.60341674	0.81746449	2.99176111	1.595589789			

Tableaux des résultats d'études statistique d'ordre un à 252 nm

2 eme jour		Dérivée à 252 nm									
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%	
	Lecteur 1	-0.0455	-0.0445	-0.0475	-0.0435	-0.0465	-0.0452	0.00175357	-0.0387957476	-	-
	Lecteur 2	-0.0455	-0.0445	-0.0485	-0.0455	-0.0455	-0.0457	0.00135093	-0.02956074	-	-
	Moy du j	-0.04525	-0.04425	-0.04775	-0.04425	-0.04575	-0.04545	0.00144049	-0.031693862	-	-
	E.T	0.00035355	0.00035355	0.00035355	0.00176777	0.00035355	0.00035355				
	CV	-0.00781333	-0.00798991	-0.00740426	-0.03994954	-0.00772794	-0.00777895				
	CV %	-0.78133346	-0.79899071	-0.74042595	-3.99495357	-0.7727943	-0.77789525				

3eme jour		Dérivée à 252 nm									
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%	
	Lecteur 1	-0.0535	-0.0465	-0.0505	-0.0471	-0.0515	-0.04982	0.0029685	-0.05958453	-	-
	Lecteur 2	-0.0465	-0.0455	-0.0485	-0.0469	-0.0475	-0.04678	0.00114761	-0.02453198	-	-
	Moy du j	-0.05	-0.04575	-0.04925	-0.04725	-0.0495	-0.0483	0.00183201	-0.03792975	-	-
	E.T	0.00494975	0.00106066	0.00176777	0.00014142	0.00282843	0.0021496				
	CV	-0.09899495	-0.02318383	-0.03589375	-0.00300897	-0.05713994	-0.04450527				
	CV %	-9.89949494	-2.31838289	-3.58937452	-0.3008965	-5.71399419	-4.45052715				

Tableaux des résultats d'études statistique d'ordre un à 274 nm

2eme jour		Dérivée à 274 nm								
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	-0.044	-0.044	-0.045	-0.043	-0.047	-0.044	0.00144049	-0.03215371	-3.2153706
	Lecteur 2	-0.043	-0.043	-0.046	-0.042	-0.045	-0.043	0.00148324	-0.03355746	-3.35574592
	Moy du j	-0.043	-0.043	-0.045	-0.043	-0.046	-0.044	0.00141421	-0.03178008	-3.1780081
	E.T	0.00035355	0.00035355	0.00035355	0.00070711	0.00106066	0.00042426			
	CV	-0.00808122	-0.00808122	-0.00772794	-0.01644434	-0.02293319	-0.00953402			
	CV %	-0.80812204	-0.80812204	-0.7727943	-1.64443437	-2.29331929	-0.9534024			

3eme jour		Dérivée à 274 nm								
17.28 ppm	N° Tube	1	2	3	4	5	Moy	E.T	CV	CV%
	Lecteur 1	-0.046	-0.046	-0.048	-0.044	-0.048	-0.046	0.00165831	-0.03566263	-3.56626322
	Lecteur 2	-0.044	-0.043	-0.046	-0.043	-0.045	-0.044	0.00143178	-0.03210274	-3.21027378
	Moy du j	-0.045	-0.045	-0.047	-0.043	-0.046	-0.045	0.00149374	-0.03279335	-3.27933463
	E.T	0.00106066	0.00212132	0.00106066	0.00070711	0.00176777	0.0013435			
	CV	-0.02344	-0.04714045	-0.02244783	-0.01625533	-0.0378132	-0.02949512			
	CV %	-2.34400038	-4.71404521	-2.24478343	-1.62553283	-3.78131969	-2.94951237			

الملخص

تم تطوير طريقتين طيفيتين لتقدير جرانيسترون وأوندانسيترون في الصيغة الصيدلانية، تعتمد طريقة القياس الطيفي المباشر على استخدام الطيف الرتبة الصفيرية لتقدير جرانيسترون وأوندانسيترون عن طريق التفكيك أو التخفيف. في الماء المقطر ثم قياس الامتصاص عند 301 نانومتر (جرانيسترون) وعند 267 نانومتر (أوندانسيترون). تعتمد طريقة الاشتقاق على اشتقاق أطراف الرتبة الصفيرية من الرتبة الأولى ثم تقوم بعد ذلك بقياس جرانيسترون وأوندانسيترون عند 283 نانومتر و252 نانومتر على التوالي. وقد تم استخدام هذه الطريقة أيضًا في التحديد المتزامن لـ جرانيسترون وأوندانسيترون في مزيج مركب.

الطرق المذكورة أعلاه دقيقة ويتم تطبيقها بنجاح لتحديد جرانيسترون وأوندانسيترون إما في النموذج المدمج أو في النموذج الفردي (يحتوي على جرانيسترون وحده أو أوندانسيترون).

الكلمات المفتاحية: جرانيسترون، أوندانسيترون، مزيج، القياس الطيفي المباشر، القياس الطيفي المشتق.

Résumé

Deux méthodes spectrophotométriques sont développées pour la détermination de granisétron et d'ondansétron dans la formulation pharmaceutique. la méthode spectrophotométrie direct est basée sur l'utilisation du spectre d'ordre zéro pour la détermination de granisétron et d'ondansétron par la dissolution ou la dilution dans l'eau distillée puis mesuré l'absorbance à 301 nm (GRN) et à 267 nm (OND). La méthode de dérivée est basée sur la dérivation des spectres d'ordre zéro au premier ordre, puis on quantifier le GRN et l'OND à 283 nm et 252 nm respectivement. Cette méthode a été utilisée aussi pour la détermination simultanée de GRN et d'OND dans un mélange formulé.

Les méthodes précédentes sont exactes et précise et sont appliquées avec succès pour la détermination de GRN et d'OND soit dans la forme combiné ou la forme unique (contient GRN seul ou OND).

Mots clé : granisétron (GRN), ondansétron (OND), mélange, spectrophotométrie direct, spectrophotométrie dérivé

Summary

Two spectrophotometric methods are developed for the determination of granisetron and ondansetron in the pharmaceutical formulation. The direct spectrophotometry method is based on the use of the zero order spectrum for the determination of granisetron and ondansetron by dissolution or dilution in distilled water and then measured the absorbance at 301 nm (GRN) and at 267 nm (OND). The derivation method is based on the derivation of the first-order zero-order spectra and then quantifies the GRN and the OND at 283 nm and 252 nm respectively. This method was also used for the simultaneous determination of GRN and OND in a formulated mixture.

The above methods are accurate and are successfully applied for the determination of GRN and OND in either the combined form or the single form (contains GRN or OND alones).

Key words: granisetron (GRN), ondansetron (OND), direct spectrophotometry, derivative spectrophotometry

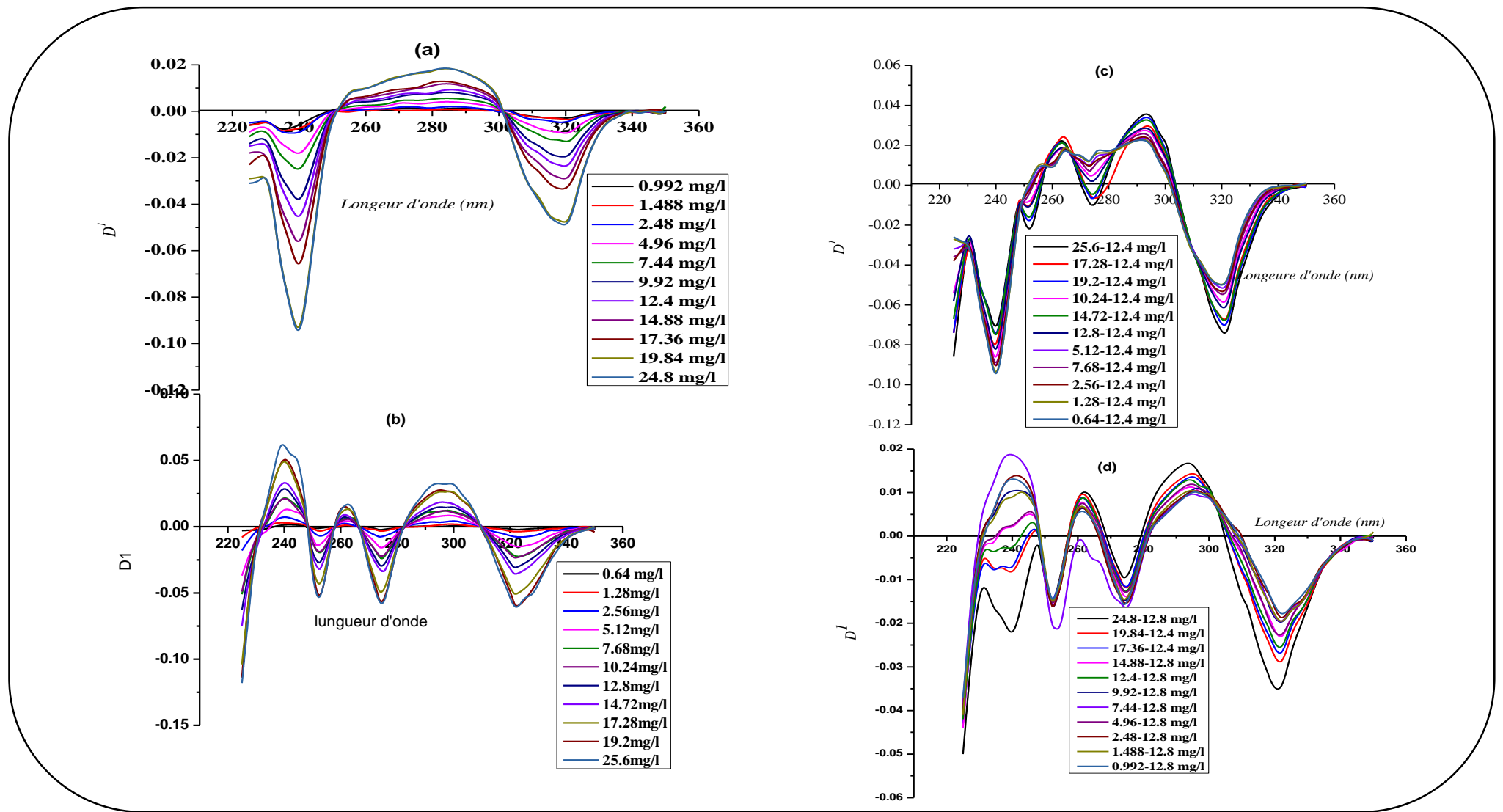


Figure N°II-6 : les spectres d'ordre un : (a) de GRN pur, (b) d'OND, (c) d'OND en présence GRN, (d) GRN en présence OND



Partie I

Etude bibliographique



Introduction



Partie II

Partie Expérimentale



Sommaire



Conclusion



Référence



Annexes