

Afin de répondre aux exigences réglementaires ou normatives, les performances des méthodes analytiques doivent être bien caractérisées et les résultats issues de ces mêmes méthodes assorties d'une précision définie, par exemple, une incertitude connue, et ce, dans le but de faciliter leur interprétation ou leur comparaison. Largement abordés dans la partie introductive, les avantages reconnus de telles pratiques deviennent de nos jours une exigence pratiquement incontournable à l'égard de nombreuses directives gouvernementales, des productions industrielles et du commerce international. L'incertitude traduit la performance d'une méthode de mesure associée au résultat. En conséquence, les analystes ne peuvent plus s'exclure de la pression relative à la démonstration de la qualité des résultats rendus.

L'objectif principal du présent travail est donc de réaliser une étude comparative des différentes approches alternatives permettant d'estimer l'incertitude des mesures analytiques sans avoir recours à une étude conventionnelle de type métrologique. Signalons d'ailleurs à cet égard que dans certains cas, la nature même de la méthode d'essai empêche un calcul rigoureux, métrologiquement et statistiquement fiable de l'incertitude. C'est pourquoi nous nous intéresserons plus particulièrement dans le cadre de notre travail aux approches basées sur des études inter-laboratoires, de robustesse et de validation. A cette fin, nous nous proposons de considérer deux techniques analytiques largement répandues dans le domaine pharmaceutique, à savoir la chromatographie liquide et l'électrophorèse capillaire qui seront appliquées à la séparation chirale.

Dans un premier temps, nos efforts se focaliseront sur le développement des méthodes analytiques.

En ce qui concerne la méthode de chromatographie liquide, nous nous proposons d'effectuer une optimisation des conditions analytiques en vue de séparer et de déterminer simultanément l'énantiomère *R*-timolol et les autres substances apparentées dans le maléate de *S*-timolol. En effet, dans la pharmacopée européenne figurent, d'une part une méthode de chromatographie liquide chirale pour l'énantiomère *R*-timolol, et d'autre part une méthode de chromatographie sur couche mince pour les substances apparentées. A cette fin, nous appliquerons une stratégie d'optimisation par approche multivariée, ce qui nous permettra d'étudier et de mieux comprendre les effets des paramètres opératoires sur le comportement de la méthode analytique.

Quant à la méthode d'électrophorèse capillaire, nous choisirons délibérément la technique en milieu non aqueux basée l'utilisation de l'heptakis(2,3-di-*O*-méthyl-6-*O*-sulfo)- β -cyclodextrine comme sélecteur chiral associée au camphosulfonate au sein d'une solution méthanolique acidifiée. En effet, cette technique s'est révélée très prometteuse pour la séparation des substances médicamenteuses basiques et parmi elles, le timolol. De plus, nous disposons de suffisamment d'échantillons réels pour pouvoir mener les différentes études en rapport avec les objectifs de notre travail. En revanche, il nous semble essentiel au niveau de cette technique de nous focaliser sur les paramètres connus pour jouer un rôle important sur la quantification, notamment la sélection de l'étalon interne, l'évaluation du temps d'injection, la concentration appropriée de l'échantillon.

Les conditions optimales étant obtenues pour ces deux méthodes, nous nous efforcerons ensuite de valider leur aptitude à quantifier avec une fiabilité connue l'impureté *R*-timolol dans du maléate de *S*-timolol. Pour cela, nous comptons appliquer un concept novateur du profil d'exactitude comme outil de décision. De plus, celui-ci nous permettra d'évaluer l'incertitude à partir des profils obtenus en phase de validation. Cette approche originale offre le grand avantage de permettre l'estimation de l'incertitude sans devoir réaliser d'autres expériences que celles nécessaires à l'établissement de la validité des méthodes analytiques concernées.

Par la suite, au moyen du test de robustesse, nous évaluerons l'influence des paramètres opératoires de chaque méthode sur les réponses qualitatives et quantitatives. Les informations recueillies nous seront d'une grande utilité pour mener à bien l'étape suivante de notre travail c'est-à-dire l'étude du comportement de ces méthodes lors d'essais inter-laboratoires. En ce qui concerne plus particulièrement la robustesse, nous nous intéresserons plus spécifiquement aux réponses quantitatives qui sont relativement peu abordées. Rappelons simplement à cet égard que l'objectif des méthodes qui seront développées n'est pas seulement de séparer mais surtout de pouvoir quantifier le *R*-timolol dans le *S*-timolol. De plus, ces mêmes réponses quantitatives nous permettront également d'évaluer l'incertitude de mesure et d'en tirer des conclusions congruentes pour les futures études inter-laboratoires.

Nous tenterons également d'éprouver les méthodes de chromatographie liquide et d'électrophorèse capillaire à plus large échelle. En appliquant les normes ISO 5725-2, nous

mènerons des études collaboratives avec pour objectif l'évaluation de la reproductibilité des résultats pour chaque méthode. Néanmoins, avant d'effectuer l'étude collaborative proprement dite, la mise en œuvre de ces deux méthodes par les laboratoires participants ainsi que l'adéquation du protocole seront préalablement examinées au moyen d'un test préliminaire.

Au terme de ces différentes études, nous essayerons de comparer les incertitudes obtenues dans les étapes de validation, de robustesse et d'étude inter-laboratoire et d'en tirer certaines conclusions.

De plus, étant donné que dans les deux techniques analytiques (chromatographie liquide et électrophorèse capillaire), le même composé sera quantifié, nous envisagerons également de comparer les performances obtenues avec ces deux techniques.

Enfin, au terme de notre travail, nous comptons être en mesure de proposer des recommandations pragmatiques reposant sur des bases scientifiques pour l'estimation de l'incertitude chez les prestataires de services dans le domaine de la santé humaine.