

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS SÉTIF 1**  
**FACULTÉ DE MÉDECINE**



**DÉPARTEMENT DE PHARMACIE**

**Mémoire de Fin d'études en Vue de l'obtention  
Du Diplôme de Docteur en Pharmacie**

**MISE AU POINT ET OPTIMISATION D'UNE METHODE DE  
DOSAGE DU CYCLOPHOSPHAMIDE PAR HPLC DANS LES  
PREPARATIONS MAGESTRALES PEDIATRIQUES**

**Soutenu publiquement le : 30/06/2024**

Présenté et soutenu par : **CHIBOUT** Oumaima  
**MEKARNI** Cherifa  
**BENAATIA** Rahma

**Encadrant** : Pr. **KAARAR** M.Nadjib, Maitre de Conférences H.U en Chimie Analytique,  
Département de pharmacie, Faculté de médecine, UFAS-1.

**Devant le jury** :

**Président** :

Pr. **BOUMAZA** Noureddine, Maitre de Conférences classe B en Chimie Générale,  
Département de pharmacie, Faculté de médecine, UFAS-1.

**Examineurs** :

Dr. **CHIKH** Abdelhamid, Maitre Assistant en Pharmacie Galénique, Département de  
pharmacie, Faculté de médecine, UFAS-1.

Dr. **ACHOURI** Khaled, Maitre Assistant en Hydrologie-Bromatologie, Département de  
pharmacie, Faculté de médecine, UFAS-1.

**Année Universitaire 2023/2024**

## Résumé

Le cyclophosphamide est un agent alkylant utilisé en chimiothérapie anticancéreuse. Il agit en empêchant la réplication de l'ADN des cellules à division rapide. Afin de développer une méthode HPLC pour optimiser d'une méthode de dosage du cyclophosphamide, une étude par plans de criblage définitifs à trois niveaux a été réalisée. Les facteurs étudiés étaient la composition de la phase mobile (pourcentage d'acétonitrile) et le débit. Les réponses analysées étaient le nombre de plateaux théoriques, le temps de rétention et la résolution avec les pics adjacents. L'analyse a montré que la composition de la phase mobile était le facteur le plus influent sur le nombre de plateaux théoriques, avec des conditions optimales à 37% d'acétonitrile. Le débit et la composition de la phase mobile étaient les facteurs les plus influents sur le temps de rétention, avec des conditions optimales à 20% d'acétonitrile et 1 mL/min. Pour la résolution, le débit et la composition de la phase mobile, ainsi que leur interaction, étaient significatifs, avec des conditions optimales à 34% d'acétonitrile et 1 mL/min. Un MODR a permis de définir un espace de conception robuste, dans lequel un point expérimental a été choisi (1,49 mL/min, 25% acétonitrile) pour éviter toute dérive lors de la routine.

**Mots-clés :** cyclophosphamide, plans d'expérience, plan de criblage définitif, optimisation, HPLC.

## **Abstract**

Cyclophosphamide is an alkylating agent used in cancer chemotherapy. It acts by inhibiting DNA replication in rapidly dividing cells. In order to develop an HPLC method for determining the retention time of cyclophosphamide, a three-stage final screening design study was carried out. The factors studied were the composition of the mobile phase (percentage of acetonitrile) and the flow rate. The responses analysed were the number of theoretical plates, retention time and resolution with adjacent peaks. The analysis showed that the composition of the mobile phase was the most influential factor on the number of theoretical plateaus, with optimum conditions at 37% acetonitrile. The flow rate and composition of the mobile phase were the most influential factors on retention time, with optimum conditions at 20% acetonitrile and 1 mL/min. For resolution, the flow rate and composition of the mobile phase, as well as their interaction, were significant, with optimum conditions at 34% acetonitrile and 1 mL/min. An MODR was used to define a robust design space, in which an experimental point was chosen (1.49 mL/min, 25% acetonitrile) to avoid any drift during the routine.

**Key words:** Cyclophosphamide, Design of experiments, Screening design, Optimization, HPLC.

## ملخص

السيكلوفوسفاميد هو عامل مؤلّك يستخدم في العلاج الكيميائي للسرطان. ويعمل عن طريق تثبيط تضاعف الحمض النووي لتحديد زمن استبقاء السيكلوفوسفاميد ، تم إجراء دراسة تصميم HPLC في الخلايا سريعة الانقسام. من أجل تطوير طريقة فحص نهائي من ثلاث مراحل. كانت العوامل التي تمت دراستها هي تركيبة الطور المتحرك (النسبة المئوية للأسيتونيتريل) ومعدل التدفق. كانت الاستجابات التي تم تحليلها هي عدد الهضاب النظرية، وزمن الاستبقاء والدقة مع القمم المتجاورة. وأظهر التحليل أن تركيبة الطور المتحرك كانت العامل الأكثر تأثيراً على عدد الهضاب النظرية، مع وجود الظروف المثلى عند 37% أسيتونيتريل. كان معدل التدفق وتكوين الطور المتحرك أكثر العوامل تأثيراً على زمن الاحتفاظ، مع الظروف المثلى عند 20% أسيتونيتريل و 1 مل/دقيقة. بالنسبة إلى الدقة، كان معدل التدفق وتكوين الطور المتحرك، بالإضافة إلى لتحديد مساحة تصميم قوية، MODR تفاعلها مهماً، مع الظروف المثلى عند 34% أسيتونيتريل و 1 مل/دقيقة. تم استخدام حيث تم اختيار نقطة تجريبية (1.49 مل/دقيقة، و 25% أسيتونيتريل) لتجنب أي انحراف.

**الكلمات المفتاحية:** السيكلوفوسفاميد, تصميم التجارب, خطة تصميم نهائية, الاستشراب السائل الرّفيع الإنجاز.