

Dosage de produits pharmaceutiques par spectrométrie

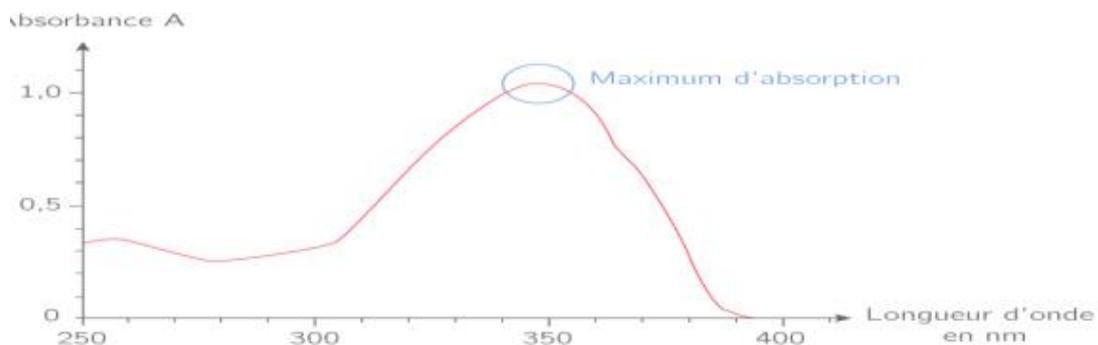
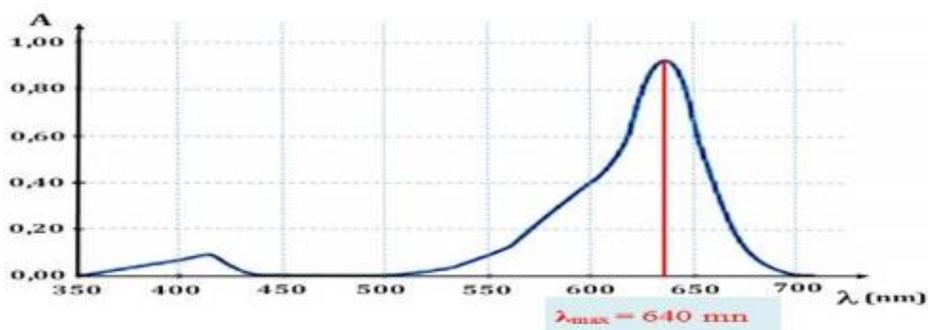
UV-Vis

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C$$

A : absorbance autrefois appelée densité optique (D.O.) (sans unité) L'absorbance A est la capacité d'une espèce chimique à absorber une lumière (comprise entre 0 et 2) ϵ est le coefficient d'extinction molaire (coefficient d'absorption molaire); c'est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée. (ϵ est en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$). ϵ est le coefficient d'absorption spécifique si C en g/L (ϵ est en $L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$) l est la largeur (épaisseur) de cuve en cm C est la concentration de la solution ($mol \cdot L^{-1}$)

Allure du spectre d'absorption UV-visible :

$A = f(\lambda)$ • Spectre UV-visible : tracé de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde (usuellement exprimée en nm). • Bande caractérisée par position λ_{max} , son intensité reliée au coefficient d'extinction molaire ϵ_{max} .



Qui absorbe? Les chromophores

sont des molécules chimiques contenant dans leur structure des doubles liaisons conjuguées. un chromophore est un groupement fonctionnel qui peut donner une transition électronique. Les systèmes conjugués sont définis par une alternance de liaisons simples et de liaisons

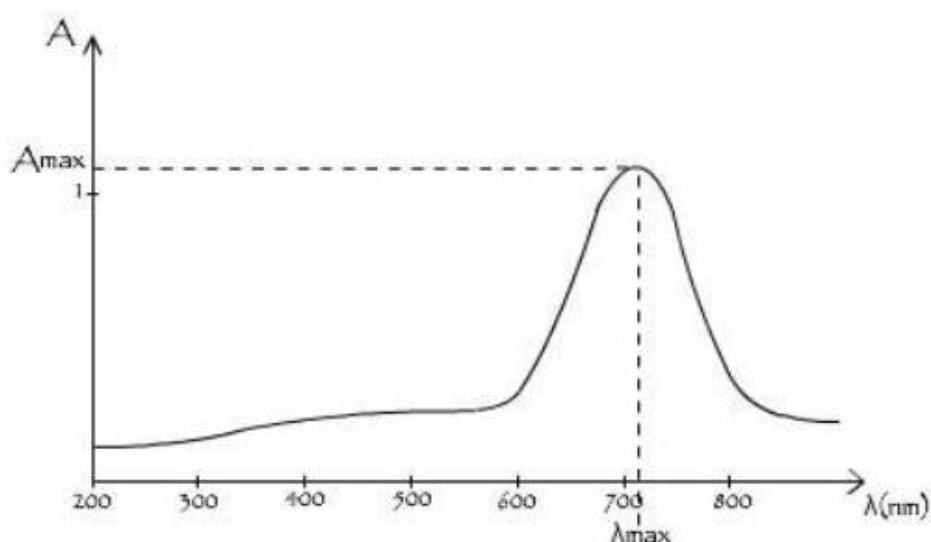
doubles ou par un système constitué d'une liaison double suivi d'une liaison simple lié à un atome portant un doublet d'électrons non lié. Les électrons des doubles liaisons sont délocalisés à l'ensemble du chromophore et ils peuvent se déplacer le long de la molécule. La conséquence directe de cet effet est que le chromophore peut absorber des photons de certaines longueurs d'onde. Plus le nombre de doubles liaisons conjuguées est grand, plus la longueur d'onde d'absorption est décalée vers les grandes longueurs d'onde (vers le domaine de visible).

Les auxochromes:

Un auxochrome est constitué d'un groupement d'atomes situés au voisinage direct du chromophore, et qui intervient alors sur la délocalisation électronique de celui-ci. Les auxochromes sont capables de modifier la longueur d'onde λ_{\max} absorbée par le chromophore, ainsi que la valeur de l'absorbance correspondante. On peut citer plusieurs effets : - Effet bathochrome : Augmentation de λ_{\max} - Effet hypsochrome : Diminution de λ_{\max} - Effet hyperchrome : Augmentation de l'absorbance. - Effet hypochrome : Diminution de l'absorbance.

Spectre d'absorption

Pour chaque longueur d'onde, l'absorbance est mesurée et les données recueillies sont utilisées pour tracer les courbes d'absorbance A (en ordonnée) en fonction de la longueur d'onde λ (en abscisse). Afin d'obtenir un spectre UV-visible, la solution est soumise aux rayonnements dont la longueur est comprise dans l'intervalle 200 -400 nm (domaine des ultraviolets proches) et dans l'intervalle 400-800 nm (domaine de la lumière visible). Le graphique ainsi obtenu constitue un spectre UV-visible. Un spectre UV-visible comporte toujours une longueur d'onde λ_{\max} pour laquelle l'absorbance est maximale A_{\max} .



Couleur des espèces chimiques

-Si le maximum d'absorbance correspond à une longueur d'onde appartenant au domaine des ultraviolets (200-400 nm), alors celle-ci est incolore,

-Si λ max appartient au domaine du visible (400-800 nm) alors l'espèce chimique possède la couleur complémentaire de celle correspondant λ max.

Types de transitions électroniques

L'absorption de radiation UV-Visible peut conduire à des transitions entre certains niveau .

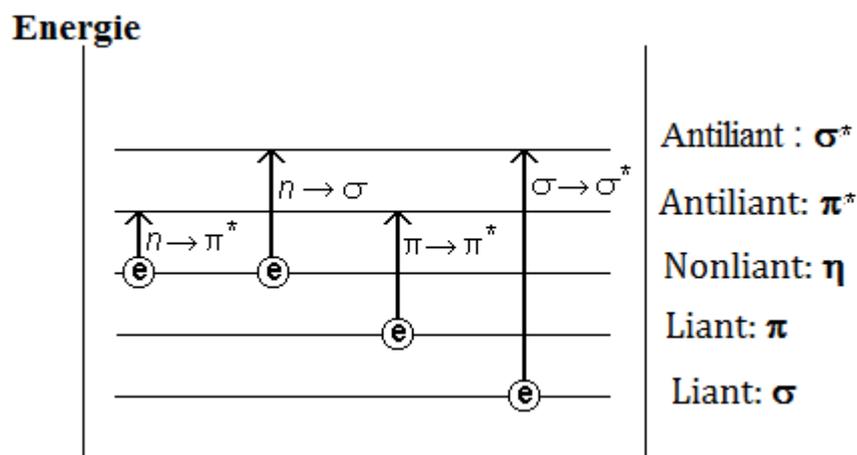


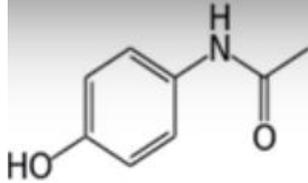
Figure. Niveaux relatifs des différents types d'OM d'une molécule organique non conjuguée.

Tableau: Quelques exemples des transitions électronique

Transition	Intervalle de λ (nm)	Exemples
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	< 200	C—C, C—H
$n \rightarrow \sigma^*$	160–260	H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ Cl
$\pi \rightarrow \pi^*$	200–500	C=C, C=O, C=N, C≡C
$n \rightarrow \pi^*$	250–600	C=O, C=N, N=N, N=O

REF

Analyse instrumentale, Biotechnologie végétale et Amélioration (L3), Université Ferhat Abbas



Structure chimique du paracétamol

Paracétamolémie

M. Spectrophotométrie

Le principe de mesure est basé sur la propriété d'absorbance de la lumière UV du paracétamol à 405 nm.

Principe

Après **défécation** des protéines par l'**acide trichloracétique** et sous l'action de l'**acide nitreux** naissant, le paracétamol est transformé en un dérivé **nitreux** qui se colore en **jaune orangé** en milieu **alcalin**.

Loi de Beer-Lambert :

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

Le coefficient directeur de la droite correspond au produit $\epsilon \times l$.

Paracétamolémie

Réactifs

Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 10%.

HCl pur « d=1,19 ».

Solution aqueuse de NaNO₂ (préparée extemporanément (2g/10 ml d'eau).

Solution aqueuse de sulfamate d'NH₄ à 30%.

Solution de NaOH à 25%

Solution étalon de paracétamol à 1mg/ml dans l'eau distillée.

Matériel

1. Tubes à centrifuger de 10 ml en **plastique**

2. Cuve photométrique.

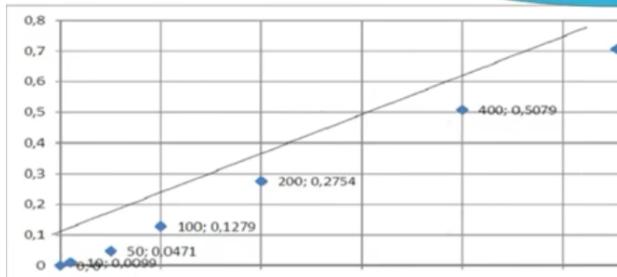
Mode opératoire

A partir d'une solution de paracétamol à 1mg/ml, préparer une gamme d'étalonnage dans des tubes à centrifuger de 10 ml.

[c] (µg/ml)	0	50	100	200	Ech
Sérum témoin (ml)	1	1	1	1	—
Solution paracétamol (µl)	—	50	100	100	—
Eau distillée (µl)	200	150	100	100	200
Acide trichloracétique	2	2	2	2	2

- Agiter au vortex pendant 1 minute
- Mettre 2 ml du liquide dans un autre tube
- Ajouter 0,5 ml d'HCl pur et 1 ml NaNO₂ 20%
- Agiter à la main et attendre 2 minutes
- Ajouter très doucement 1 ml de sulfamate d'NH₄ à 30% et 2ml de NaOH 25%
- Agiter au vortex 15 secondes
- Lire l'absorbance à 430nm
- Tracer la courbe d'étalonnage et en déduire la concentration du paracétamol dans votre échantillon X.
- Sachant que le taux sérique toxique est supérieur à 50mg/l après 10 heures d'ingestion ou 200mg/l après 2 heures, qu'en concluez-vous ?

Paracétamolémie



Interprétation

- Délai par rapport à la prise
- Taux en fonction du délai
- Importance du traitement antidotal

Figure 18 : Courbe d'étalonnage du dosage spectrophotométrique du paracétamol dans le sang des patients présumés intoxiqués par ce médicament.

Tableau II : Résultats des absorbances mesurées à 405 nm.

Concentration (mg/l)	Gamme étalon					Echantillons de sang	
	0	50	100	200	400	C ₁	C ₂
Absorbance à 405 nm	0	0,0431	0,1249	0,2754	0,5049	0,7070	0,0089