

FACULTE DE PHARMACIE DE LYON

**TRAVAUX PRATIQUES
D'ESSAIS
PHYSICO-CHIMIQUES
DE MEDICAMENTS**

4ème ANNEE

1994 - 1995

LABORATOIRE DE CHIMIE THERAPEUTIQUE

A.A.E.P.L.
Association Amicale des Etudiants en Pharmacie de Lyon
8 avenue Rockefeller - 69373 LYON CEDEX 08
Tél. : 78-74-40-37

REMARQUES GENERALES

Ce que l'étudiant doit connaître concernant les manipulations d'Essais des Médicaments

- 1 - Règles de sécurité - Lutte antipollution
- 2 - Responsabilité de l'étudiant concernant le matériel, les réactifs, la tenue des instruments de précision mis à sa disposition
- 3 - Raisons du choix des manipulations et principes de rédaction adoptés
- 4 - "Reconnaisances" et "Diagnoses".
- 5 - Modèle de Compte-rendu pour les essais de conformité.

1 - REGLES DE SECURITE

Certaines manipulations ne sont pas sans danger. Le port de lunettes est obligatoire.

Prudence et vigilance constantes doivent, en principe, éviter tout accident.

2 - RESPONSABILITE DE L'ETUDIANT CONCERNANT LE MATERIEL, LES REACTIFS, LA TENUE DES APPAREILS DE PRECISION

Ces travaux pratiques consistent en une diagnose, un essai et un dosage d'une substance médicamenteuse.

L'essai des médicaments fait intervenir des méthodes physiques ou chimiques qui ont pour la plupart déjà fait l'objet de T.P. antérieurs.

Dans certains cas, il s'agit d'utiliser ces méthodes pour expertiser un médicament. Par conséquent, il est nécessaire de conclure vos essais et de **prendre position** :

- le médicament analysé est-il celui annoncé ?
- le médicament analysé est-il conforme aux normes officielles ?

Des photocopies de la Pharmacopée figurent dans ce fascicule pour illustrer le problème du contrôle des molécules médicamenteuses : les essais des médicaments doivent être faits selon des règles impératives, il s'agit d'une obligation légale.

4 - "RECONNAISSANCE" et "DIAGNOSE"

Une simple "reconnaissance" telle qu'elle se pratique pour les plantes ou les préparations galéniques courantes est insuffisante pour affirmer qu'on a bien en main tel ou tel médicament chimique.

La "reconnaissance" (qui suppose qu'on a déjà rencontré et manipulé le médicament) peut mettre rapidement sur la voie ; elle ne peut en aucun cas suffire et n'évite pas l'identification ou "diagnose",

opération rationnelle, sûre, et qui doit obligatoirement précéder l'expertise. Pour se prononcer, la vérification des caractères d'identité et/ou la mesure de constantes physiques judicieusement choisies sont indispensables.

L'étudiant doit être averti qu'à côté des techniques officielles ("opposables", selon les termes des experts) l'industrie pharmaceutique utilise des méthodes de diagnose rapide, pouvant être pratiquées par un personnel non pharmacien, et dont le seul objectif est d'éviter une erreur catastrophique dans la nature du produit réceptionné.

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

FACULTE DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
8, avenue Rockefeller - 69373 LYON Cedex 08
Tél. 78.77.70.00

VOLET 1

DEMANDE D'AUTORISATION DE RATTRAPAGE
(à Conserver par le Secrétariat)

NOM Prénom

Etudiant en Année de Pharmacie

Groupe.....

Date de l'Absence.....

Matière.....

Motifs : Santé (joindre un certificat médical)
Autres

Lyon, le
Signature de l'Etudiant

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

FACULTE DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
8, avenue Rockefeller - 69373 LYON Cedex 08
Tél. 78.77.70.00

VOLET 2

DECISION DE RATTRAPAGE

NOM..... Prénom

Etudiant en Année de Pharmacie

Groupe.....

Date de l'Absence.....

Matière.....

Motifs : Santé
Autres

DECISION DU RESPONSABLE
DE L'ENSEIGNEMENT :

Lyon, le
Signature de l'Enseignant

PRIERE DE TRANSMETTRE 1 DOUBLE
AU SERVICE ADMINISTRATIF

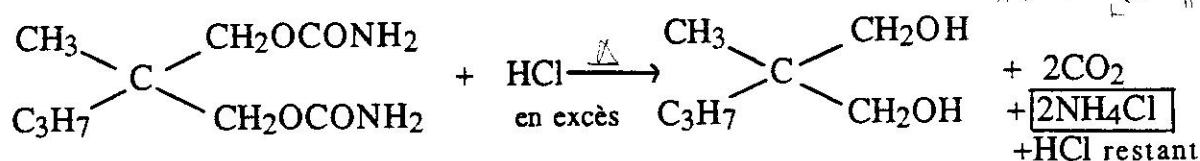
MODELE DE LA FEUILLE A
RETIREE AU SECRETARIAT EN CAS D'ABSENCE

MEPROBAMATE

La manipulation comporte :

- 1) la vérification des caractères de solubilité dans l'eau, l'alcool (cf essais),
- 2) L'identification se fera par :
 - la détermination du point de fusion,
 - la réaction décrite en C de la monographie Ph. Fr..
- 3) Dosage : on adoptera pour des raisons de durée le protocole décrit dans la Pharmacopée de 1965.

Par hydrolyse par HCl concentré, à chaud, il se fera du chlorure d'ammonium.



HCl restant est exactement neutralisé en présence de rouge de méthyle de façon à ne pas décomposer NH_4Cl .
 Ensuite l'addition de formol neutralisé "camoufle" les ions ammonium et l'acide chlorhydrique "démasqué" est titré par la soude en présence de phénolphtaléine.

On titre donc exactement l'acide salifiant l'ammoniac libéré par l'hydrolyse du dicarbamate.

ATTENTION :

- a) Débuter la manipulation par le dosage.
- b) L'essai à blanc se fait de la manière suivante :

<u>formol</u>	<u>30 ml</u>
<u>eau</u>	<u>50 ml</u>
<u>rouge de méthyle</u>	<u>II gouttes</u>

Neutraliser par NaOH 0,5 N jusqu'à virage au jaune franc.

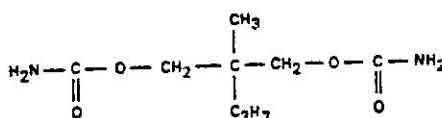
Ajouter ensuite II gouttes de phénolphtaléine et continuer l'addition de NaOH 0,5 N jusqu'à coloration rose persistante. Soit n' le nombre total de m NaOH 0,5 N utilisé.



MÉPROBAMATE

Meprobamatum

PROCALMADIOL



$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$

PM 218,3

Le méprobamate contient au minimum 97,0 pour cent de dicarbamate de méthyl-2 propyl-2 propanediyle-1,3, calculé par rapport à la substance desséchée.

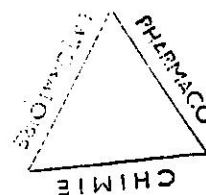
Caractères. — Poudre cristalline blanche ou cristaux incolores, inodores ou sensiblement inodores, de saveur amère caractéristique, peu solubles dans l'eau à 25°, assez solubles dans l'eau à 50°, facilement solubles dans l'alcool et ~~solubles dans l'éther.~~

Identification. — A — Le point de fusion du méprobamate est compris entre 103° et 107°.

B — Ajoutez à 0,5 g de méprobamate 1 ml d'anhydride acétique (R) et une goutte d'acide sulfurique (R), mélangez et laissez reposer pendant 30 mn à la température ambiante en agitant fréquemment. Versez, goutte à goutte, la solution dans 50 ml d'eau, mélangez et laissez reposer, amorcez la cristallisation en frottant la surface intérieure du tube avec une baguette de verre. Recueillez le précipité sur un filtre et lavez, puis desséchez à 60°. Le point de fusion du précipité est voisin de 127°.

C — Dissolvez 20 mg environ de méprobamate dans 2 ml d'une solution de diméthylaminobenzaldéhyde (R) à 1 pour cent p/v dans l'acide sulfurique (R). Il se développe une coloration jaune virant, après quelques minutes, à l'orangé. Chauffez ensuite

Octobre 1976.



MÉPROBAMATE

pendant 2 mn au bain-marie; la coloration vire au rouge intense. Refroidissez et ajoutez, goutte à goutte, 5 ml d'eau. La coloration vire d'abord au rouge sombre, puis au violet bleuâtre assez stable.

D — Dissolvez 0,2 g de méprobamate dans 15 ml de solution alcoolique d'hydroxyde de potassium 0,5N et chauffez à reflux pendant 15 mn. Ajoutez 0,5 ml d'acide acétique glacial (R) et 1 ml de solution de nitrate de cobalt (R) à 5 pour cent p/v dans l'éthanol (R). Il se développe une coloration bleu intense.

Essai. — 1° *Aspect de la solution.* — Dissolvez 1,0 g de méprobamate dans 20 ml d'éthanol (R). La solution devra être limpide, procédé B, page II - 351 et incolore, procédé I, page II - 338.

2° *Impuretés apparentées.* — Opérez par chromatographie sur couche mince, page II - 314, en utilisant une plaque recouverte de gel de silice G (R).

Solution à examiner. — Dissolvez 0,4 g de méprobamate dans de l'alcool (R) et complétez à 10 ml avec le même solvant.

Solution témoin. — Prélevez 0,1 ml de solution à examiner et complétez à 10 ml avec de l'alcool (R).

Déposez séparément sur la plaque 5 µl de chaque solution. Développez avec un mélange de 50 volumes d'acétone (R) et de 50 volumes de toluène (R) sur un parcours de 15 cm. Desséchez la plaque à 120° pendant 10 mn. Laissez refroidir et pulvérisez une solution de 0,25 g de vanilline (R) dans un mélange refroidi de 40 ml d'acide sulfurique (R) et de 10 ml d'alcool (R), puis chauffez à 120° pendant 15 à 30 mn. S'il apparaît sur le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner d'autres taches que la tache principale, elles ne devront pas être plus intenses que celle du chromatogramme de la solution témoin.

3° *Métaux lourds.* — Reprenez les cendres sulfuriques par 1 ml d'acide chlorhydrique dilué (R), puis évaporez à siccité au bain-marie. Dissolvez le résidu à chaud dans 2 ml d'acide chlorhydrique (R), ajoutez 5 ml d'eau et neutralisez à l'aide de la solution diluée d'hydroxyde de sodium (R) en présence de solution de phénolphthaleïne (R). Acidifiez jusqu'à décoloration à l'aide d'acide acétique glacial (R) et ajoutez-en 0,5 ml en excès. Complétez à 20 ml avec de l'eau. 12 ml de solution devront satisfaire à l'essai limite des métaux lourds, page II - 285 (20 ppm). Préparez le témoin à l'aide de la solution à 1 ppm de plomb Pb (R).

4° *Perte à la dessiccation.* — Déterminée à l'étuve à 60° sous une pression inférieure à 10 Torr comme il est indiqué page II - 353, sur 1,000 g de méprobamate, la perte à la dessiccation *b* ne devra pas être supérieure à 0,5 pour cent.

5° *Cendres sulfuriques.* — Déterminé comme il est indiqué page II - 259, sur 1,0 g de méprobamate, le taux des cendres sulfuriques ne devra pas être supérieur à 0,1 pour cent.

MÉPROBAMATE

DOSAGE. — Ajoutez à une prise d'essai p exactement pesée, voisine de 0,300 g de méprobamate 25 ml de solution d'acide sulfurique (R) à 25 pour cent v/v et faites bouillir à reflux pendant 3 heures. Laissez refroidir, ajoutez en excès de la solution d'hydroxyde de sodium (R) à 20 pour cent p/v, distillez l'ammoniaque dans 50,0 ml d'acide sulfurique 0,1N et titrez l'excès à l'aide d'hydroxyde de sodium 0,1N en présence de solution de rouge de méthyle (R). Soit n le nombre de millilitres d'hydroxyde de sodium 0,1N employés. Effectuez un essai témoin dans les mêmes conditions et avec les mêmes réactifs. Soit n' le nombre de millilitres d'hydroxyde de sodium employés.

1 ml d'acide sulfurique 0,1N correspond à 0,010 91 g de $C_9H_{13}N_2O_4$.

Teneur pour cent en méprobamate du produit essayé:

$$\frac{(n' - n) 1,091}{p} \times \frac{100}{100 - b}$$

(X) Dosage (Pharmacopée 1965 - VIII° ed.)

DOSAGE. — Dans un ballon à fond rond de 250 ml, muni d'un réfrigérant ascendant de 500 mm, introduisez une prise d'essai p exactement pesée voisine de 0,35 g de procalmadiol. Ajoutez 40 ml d'acide chlorhydrique concentré (R), quelques grains de pierre ponce et portez à ébullition douce à reflux, pendant 1 heure et demie. Lavez à l'eau, puis écarter le réfrigérant. Poursuivez le chauffage jusqu'à réduction, à 10 ml environ, du volume de la liqueur et laissez refroidir; ajoutez 50 ml d'eau, deux gouttes de solution de rouge de méthyle (R) et, en refroidissant, neutralisez l'excès d'acide à l'aide de lessive de soude (R) jusqu'à début de virage. Revenez en milieu acide par addition de quelques gouttes de solution 1 N d'acide chlorhydrique et neutralisez alors, exactement, par addition ménagée de solution 0,1 N d'hydroxyde de sodium, jusqu'à virage au jaune franc. Ajoutez 30 ml de solution neutralisée de formaldéhyde (R) et titrez l'acidité libérée en ajoutant la solution 0,5 N d'hydroxyde de sodium, d'abord jusqu'à virage au jaune, puis, après addition de huit gouttes de solution de phénolphthaléine (R), jusqu'à coloration rose persistante. Soit n le nombre de millilitres de solution 0,5 N d'hydroxyde de sodium employés.

Effectuez un essai à blanc, avec les mêmes quantités de réactifs, employés dans les mêmes conditions. Soit n' le nombre de millilitres de solution 0,5 N d'hydroxyde de sodium employés pour cette deuxième opération.

1 ml de solution 0,5 N d'hydroxyde de sodium correspond à 0,054 56 g de procalmadiol.

Le produit officinal doit contenir au minimum 98 p. 100 de procalmadiol, rapporté au produit desséché.

DANGEREUX. — TABLEAU C.

$p = 0,35 \text{ g exact}$



MEPROBAMATE

Date :

Flacon n° :

NOM :

Groupe :

- Solubilités :

- Point de fusion :

- Réaction C, Ph. Fr. :

- Dosage

Principe :

poids pesé :

Calcul :

Conformité :

RECHERCHE D'ELEMENTS

I - PRINCIPE

Ces essais consistent à rechercher certains éléments présents dans la plupart des médicaments organiques, en particulier l'azote, le soufre et les halogènes.

I.1 - Soufre et azote

Le soufre et l'azote sont recherchés simultanément par la méthode de CASTALANA, qui consiste à minéraliser le médicament au moyen d'un mélange alcalin réducteur ($Mg + K_2CO_3$). Le soufre, réduit à l'état de sulfure, sera caractérisé par le nitroprussiate de sodium.

L'azote, qui a donné naissance à un cyanure, sera complexé avec le fer ferreux pour former un ferrocyanure ; ce dernier sera caractérisé par la formation de bleu de Prusse, en présence d'ions ferriques, en milieu acide.

I.2 - Halogènes

Les halogènes fixés sur une molécule organique, seront minéralisés au moyen d'un mélange oxydant et fondant $Na_2CO_3 + KNO_3$; les ions halogénures formés seront caractérisés par le nitrate d'argent..

Les halogènes minéraux seront recherchés directement par le nitrate d'argent.

II - MANIPULATION

2.1 - Recherche du soufre et de l'azote par la méthode de CASTALANA

- Mélanger soigneusement dans une capsule sèche 5 à 10 cg de médicament avec 20 cg de mélange de CASTALANA ($Mg + CO_3K_2$).
- Introduire la poudre obtenue dans un petit tube scellé à l'une de ses extrémités. Etaler la poudre sur les $3/4$ de la longueur du tube.
- Porter la partie supérieure du tube dans la flamme d'un bec Bunsen jusqu'à inflammation de la poudre.
- Pendant la fusion ignée, remonter lentement le tube dans la flamme jusqu'à l'extrémité inférieure.
- Quand toute la masse a été portée au rouge, plonger le tube sans attendre le refroidissement dans 5 à 10 ml d'eau distillée contenus dans un petit verre à pied.

Briser le tube complètement à l'aide de petits coups répétés et bien mélanger son contenu à l'eau du verre.

- Filtrer sur un petit filtre de manière à recueillir 4 à 6 ml de filtrat. Le diviser en 2 parties.

2.1.1 - Recherche du soufre

A une partie du filtrat, ajouter quelques cristaux de nitroprussiate de sodium : on obtient une coloration violette en présence de soufre.

2.1.2 - Recherche de l'azote

A 2 ou 3 ml de filtrat, ajouter V gouttes de solution ferroso-ferrique. Tiédir et ajouter ensuite quelques gouttes d'HCl pour passer en milieu acide.

- Dans le cas d'un corps non azoté, la solution obtenue est jaune pâle (sels ferriques)

- Dans le cas d'un produit azoté, il se développe une coloration bleu foncé et même, dans certains cas, un précipité bleu dû à la formation du bleu de Prusse. Parfois, au contraire (prise d'essai faible, corps pauvre en azote...), la coloration bleue sera faible et cette teinte se superposant à la couleur jaune des ions ferriques, la nuance obtenue pourra tendre au vert.

2.2 - Recherche d'halogènes

2.2.1 - Halogène minéral

Dissoudre 5 à 10 cg de médicament dans 5 ml d'eau distillée (filtrer éventuellement la partie non dissoute). Ajouter V gouttes de nitrate d'argent à 5 %, puis quelques gouttes d'acide nitrique. Il se forme un précipité d'halogénure d'argent.

2.2.2 - Halogène organique

Mélanger soigneusement dans une petite capsule 5 à 10 cg de médicament avec 0,75 cg de mélange oxydant et fondant ($\text{CO}_3\text{Na}_2 + \text{NO}_3\text{K}$).

Porter au rouge sombre. Après fusion ignée, aussitôt la disparition des dernières traces de carbone, laisser refroidir la capsule et dissoudre le résidu dans 10 ml d'eau distillée. Mélanger. Filtrer si la solution n'est pas limpide.

A 1 ml de filtrat, ajouter V gouttes de NO_3Ag à 5 % plus quelques gouttes d' HNO_3 ; il se forme un précipité.



RECHERCHE D'ELEMENTS

Date :

Flacon n° :

Nom :

Groupe :

- Soufre :

- Azote :

- Chlore organique :

- Chlore minéral :

SULFAMIDES ANTIBACTERIENS

La manipulation comporte la diagnose et le dosage d'un sulfamide.

Une méthode assez générale de dosage des sulfamides est basée sur l' "acidité" des sulfamides dans les solvants organiques basiques ; on peut ainsi les titrer, en solution dans le diméthylformamide, par le méthylate de sodium en présence de jaune d'alizarine.

On peut également les doser par bromo-iodométrie (fixation du brome sur les noyaux).

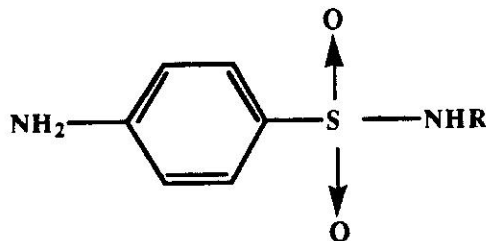
Enfin de nombreuses méthodes sont basées sur la présence du groupement libre amine primaire aromatique :

- dosage volumétrique par transformation en Diazoïque
- dosage colorimétrique après diazotation et copulation (méthode de Marshall)
- dosage colorimétrique basé sur la coloration jaune, fournie par ces dérivés avec le p. diméthylaminobenzaldéhyde en solution acide.

Signalons encore d'autres méthodes, telles que le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl, dosage par spectrophotométrie dans l'U.V., etc...

DIAGNOSE DIFFERENTIELLE

Les dérivés que nous proposons sont les suivants :



- Sulfadiazine : ADIAZINE*
- Sulfaguanidine: LITOXOL* (Ass.)
- Sulfanilamide : EXOSEPTOPLIX*
- Sulfaméthizol : RUFOL*
- Sulfaméthoxazole : BACTRIM* (Ass.)

1 - CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES

- Examiner la coloration du produit, son aspect cristallin
- Déterminer sa solubilité dans l'eau, dans HCl à 10 %, dans la soude à 10 %, dans l'éthanol, le méthanol, l'acétone, le chloroforme .
- Prendre son point de fusion (Kofler) : ce critère étant essentiel, il importe de le déterminer avec le maximum de soin (recommencer plusieurs fois, prendre le PF instantané.)

2 - REACTIONS DE CARACTERISATION

2.1 Réaction de diazotation-copulation (aminosulfonamides)

Dissoudre quelques dizaines de mg de produit dans 2 ml d'acide chlorhydrique à 10 %. Refroidir le tube sous courant d'eau froide.

Ajouter 0,5 ml de solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 10 %

Verser goutte à goutte, en agitant, cette solution dans 2 ml de solution alcaline de β-naphtol à préparer comme suit :

- 0.1 g de β naphtol
- 0.8 ml de solution diluée NaOH R
- Eau distillée qsp 2 ml

Dans le cas d'un sulfamide diazotable, on observe un précipité rouge vermillon, virant à la longue au brun-rouge (formation d'un azoïque).

Dans le cas contraire (pas de NH₂ libre), on observe un précipité jaune immédiat, virant au verdâtre (réaction négative).

2.2- Essai au formol à 20 %

Dans un tube à essais , introduire 100 mg de substance. Ajouter de l'acide chlorhydrique à 10 % qsp 10 ml et agiter le tube pour faire dissoudre le produit. (Si la dissolution n'est pas complète, filtrer dans un autre tube).

Ajouter ensuite 1 ml de formol à 20 % et observer s'il se forme ou non un précipité immédiat.

Noter également la couleur de ce précipité.

2.3- Réaction de l'indophénol

Dans un tube à essais, introduire environ 10 mg de substance et 5 ml de solution aqueuse de phénol à 1 % . Porter à ébullition pendant quelques secondes et ajouter à chaud 10 gouttes d'hypochlorite de soude (eau de javel).

Observer la coloration développée dans les six secondes qui suivent.

Refroidir : ajouter 2 ml de butanol-1 et agiter : après décantation, observer la coloration de la couche aqueuse et de la couche butanolique (densité du butanol-1 : 0.81).

Procéder au même essai, mais en alcalinisant par 2 ml de soude N avant l'addition de la solution de phénol.

3 - DIAGNOSE DIFFERENTIELLE

3.1 - Pas de précipité immédiat dans l'essai au formol 20 ‰

3.1.1 - $F = 185$ à 193°

—————→ Sulfaguanidine

poudre blanche, très peu soluble dans l'eau (davantage à chaud), soluble dans l'alcool, le méthanol, l'acétone, presque insoluble dans l'éther ou le chloroforme).

- Réaction de l'indophénol :

+sans alcaliniser :

- liquide avant addition du butanol : bouton d'or
- couche butanolique : jaune
- couche aqueuse : jaune

+en alcalinisant

- liquide avant addition du butanol : rouge orange
- . couche butanolique : vert olive
- . couche aqueuse orangée

3.1.2 - $F = 258-260^{\circ}$

—————→ Sulfadiazine

- Poudre blanche fine presque insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, le méthanol et l'acétone : insoluble dans le chloroforme ou l'éther,

- Réaction de l'indophénol :

a) sans alcaliniser :

- liquide avant addition butanol : rouge violacé
- couche butanolique : violet rouge
- couche aqueuse : ambrée

b) en alcalinisant :

- liquide avant addition butanol : vert-jaune
- couche butanolique : vert
- couche aqueuse : olive claire

3.2 - Précipité immédiat dans l'essai au formol à 20 %

3.2.1 - $F = 162-163^{\circ}$

(avec le formol, précipité blanc virant au rose avec le temps)

—————> Sulfanilamide

Caractérisation :

- Poudre blanche microcristalline, peu soluble dans l'eau (davantage à chaud), soluble dans l'alcool, le méthanol ou l'acétone, insoluble dans le chloroforme ou l'éther

- Réaction de l'indophénol :

. Sans alcaliniser

- liquide avant addition butanol : violet bleu

- couche butanolique : bleue

- couche aqueuse : mauve rose

3.2.2- $F = 168- 172^{\circ}C$

—————> Sulfamethoxazole

Poudre blanche insoluble dans l'eau, moyennement soluble dans le chloroforme, soluble dans l'éthanol et l'acétone.

Réaction de l'indophénol :

- Sans alcaliniser :

. Avant addition de butanol : Jaune- marron

puis . Couche butanolique : marron

. Couche aqueuse : Jaune-clair

- En alcalinisant :

. Avant addition de butanol : Jaune

puis . Couche butanolique : Vert

. Couche aqueuse : Jaune

3.2.3- $F = 205-212^{\circ}C$

—————> Sulfamethizol

Poudre blanche insoluble dans l'eau et le chloroforme, moyennement soluble dans l'éthanol, soluble dans l'acétone.

Réaction de l'indophénol :

- Sans alcaliniser :
 - . Avant addition de butanol : ambrée
 - puis . Couche butanolique : marron
 - . Couche aqueuse : pratiquement incolore

- En alcalinisant :
 - . Avant addition de butanol : Jaune
 - puis . Couche butanolique : Vert
 - . Couche aqueuse : Jaune clair

DOSAGE PAR DIAZOTATION

I - PRINCIPE

Cette méthode, qui s'applique à toutes les amines primaires aromatiques, met à profit leur possibilité de conduire en milieu acide et à basse température à la formation de diazoïques stables.

Le réactif titrant est une solution de nitrite de sodium et la fin de la réaction est visualisée par l'intermédiaire d'un indicateur externe : papier ioduro-amidoné.

En effet, lorsque la solution titrante de nitrite sera en excès, une goutte de mélange réactionnel déposée sur le papier indicateur oxydera l'iode en iode : l'iode ainsi libérée donnera avec l'empois d'amidon une coloration marron/bleue foncée.

La réaction globale est la suivante :



Cette technique est largement utilisée, notamment pour le dosage des p-aminobenzène sulfonamides dont le groupement amine primaire est libre.

II - TECHNIQUE

- Peser exactement une prise d'essai P, voisine de 200 mg, la dissoudre dans 10 ml d'acide chlorhydrique dilué.
- Ajouter 30 ml d'eau et de la glace pilée.

- Au moyen d'une burette graduée, ajouter lentement et en agitant, une solution 0,1 N de nitrite de sodium* jusqu'à ce qu'une goutte du mélange, prélevée avec une baguette de verre et portée sur une feuille de papier ioduro-amidoné, donne immédiatement une tache marron/bleue.

- Le titrage est terminé lorsque, 2 minutes après la dernière addition de nitrite, il se produit encore une tache marron/bleue sur le papier réactif.

* Solution à préparer extemporanément (Na = 23, N = 14, O = 16).

III - CALCULS

Déterminer la teneur pour cent en produit pur de l'échantillon essayé.

$N = NO_2 \quad PM = 69$
 $= 69$

$m = 17 \cdot 0,1 = 1,7$
 $= 6,2$
 12

0,1 mol/l \leftrightarrow 1000 ml
 x mol/l 100 ml
 NaNO₂

100 - 0
 $6,2$
~~100~~
 6,2

$PM = 69$

$m = 69 \times x \text{ mol} = 69 \times \frac{1000}{1000}$

$V_{NO_2} = 6,2 \text{ ml.}$

$Q_{NO_2} = 6,2 \cdot 0,1 = 0,62 \text{ meq}$

$Q_S = 0,62$

$m_S = 0,62 \times 184 = 114$

$= \frac{69}{1000}$

$= 0,69 \text{ g}$

mg

$\% = \frac{114}{200}$

$\% = 0,57$

ESSAIS DES MEDICAMENTS

Un médicament est constitué d'un ou plusieurs principes actifs qui doivent répondre à certaines exigences décrites dans les monographies de la Pharmacopée : caractères, identification, essais, éventuellement dosages.

Les essais prévoient des marges qui indiquent les limites en deçà et au delà desquelles le produit est rejeté comme non conforme (fraude). Ces essais sont de deux natures :

- essais physicochimiques : point de fusion, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, pH.. permettant d'apprécier la pureté d'un produit,
- recherche d'impuretés qui peuvent provenir des matières premières, de la transformation d'un médicament lors de sa conservation, de sa préparation.

Les monographies Ph. Fr. décrivent des réactions utilisant des réactifs R, R1, R2... , c'est à dire préparés conformément à la Ph. Fr.

I) ESSAIS PHYSICOCHEMISTIQUES

1.1 - Solubilité

La solubilité exprimée de façon précise en poids de substance par volume de solvant est indiquée pour une température de 20°C.

La solubilité approximative est indiquée par un terme descriptif, elle s'entend pour la température ambiante.

Termes descriptifs	Quantités approximatives de solvant (en volume, ml) pour une partie de substance (en poids, g)
Très soluble	moins d'une partie
Facilement soluble	de 1 à 10 parties
Soluble	de 10 à 30 parties
Assez soluble	de 30 à 100 parties
Peu soluble	de 100 à 1000 parties
Très peu soluble	de 1000 à 10 000 parties
Pratiquement insoluble	plus de 10 000 parties

1.2 - Point de fusion

Le point de fusion est une constante physique précise, caractéristique du produit considéré dans la mesure où celui-ci ne se dégrade pas. C'est un excellent critère de pureté, la présence d'impuretés quelles qu'elles soient, en petite quantité provoque presque toujours un abaissement de la température de fusion, jamais une élévation).

Il est indispensable lorsqu'on donne une valeur de point de fusion de préciser la méthode utilisée.

Deux méthodes sont proposées : la méthode du point de fusion instantané au banc de Kofler et au bloc Maquenne.

1.2.1 - *Détermination au banc de Kofler*
(Cf T.P. de 3ème année "Synthèse de Médicaments")

1.2.2 - *Détermination au bloc Maquenne*

L'appareil est constitué par une masse de laiton dont la surface supérieure plane doit être soigneusement nettoyée et polie. Un dispositif électrique permet de la chauffer progressivement : la température de la masse est déterminée à chaque instant à l'aide d'un thermomètre qui coulisse dans une cavité intérieure et qui peut être enfoncé entièrement dans le bloc, de manière à ce que, quelle que soit la température, la totalité de la colonne de mercure soit portée à la température du bloc.

L'appareil étant préparé en température ascendante (2°C par minute environ), projeter de temps en temps de très petits fragments de la substance séchée, pulvérisée au niveau du réservoir du thermomètre et vérifier que la fusion ne se produit pas instantanément.

La température s'élevant progressivement, noter le moment où le produit entre en fusion dès sa projection sur la surface de laiton.

Arrêter alors le chauffage après avoir noté la température correspondant juste à la fusion.

Laisser le bloc refroidir progressivement, en continuant l'opération de projection de temps en temps.

Noter la température au moment où le produit projeté cesse de fondre dès qu'il touche le métal.

Prendre comme température de fusion F la moyenne entre la température ascendante et la température descendante.

Faire 3 mesures au moins pour chaque produit en changeant si possible de manipulateur pour chacune de ces mesures.

Déterminer ainsi un point de fusion (si les 3 mesures sont identiques) ou un intervalle de fusion (entre les 2 mesures extrêmes).

1.3 Indice de réfraction rouge

- *Rappel de physique*

L'indice de réfraction d'une substance transparente homogène et non cristallisée est défini pour une longueur d'onde donnée comme le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et la vitesse de la lumière dans le milieu.

$$n\lambda = \frac{c}{v\lambda}$$

Cet indice est égal au rapport des sinus des angles d'incidence et de réfraction que fait le rayon lumineux avec la normale à la surface du milieu.

$$n\lambda = \frac{\sin i}{\sin r}$$

(l'indice de réfraction habituel est en fait mesuré par rapport à l'air. Il diffère de 0,3 % de la valeur théorique par rapport au vide).

Généralement on détermine l'indice d'une substance à la température de 20°C pour la raie D du sodium. Il est représenté par le symbole n_D

C'est une des caractéristiques physiques les plus employées en analyse chimique.

- *Manipulation :*

L'indice de réfraction d'un liquide est mesuré en utilisant 2 à 3 gouttes de liquide. Pour la manipulation, se référer à la notice d'utilisation de l'appareil. Les résultats sont exprimés en précisant la température à laquelle la mesure a été effectuée.

1.4 - Limpidité et degré d'opalescence des solutions

Il existe deux procédés utilisables selon les précisions indiquées par chaque monographie de médicament chimique. On compare le

liquide avec une série de dilutions de NaCl additionnées de nitrate d'argent AgNO_3 (précipité plus ou moins important de AgCl).

Procédé A :

Dans des tubes à essais identiques, incolores, comparer 2 ml du liquide à examiner à 2 ml de solution témoin préparée extemporanément. Cinq minutes après la préparation de la solution témoin, examiner les deux solutions à l'obscurité sous un faisceau lumineux latéral.

Procédé B :

Dans des tubes à essais identiques, incolores, comparer 10 ml du liquide à examiner à 10 ml de solution témoin préparée extemporanément. Examiner 5 minutes après les solutions dans l'axe du tube sur fond noir. Apprécier les nuances à la lumière du jour.

Solutions témoins :

Préparer les solutions témoins d'après le tableau ci-dessous en évitant d'agiter.

	A ¹	B ¹	A ²	B ²	A ³	B ³	A ⁴	B ⁴
	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml	ml
Dilution III de chlorure	0,1	0,25	1,50	3,75				
Dilution II de chlorure					0,30	0,75	0,50	1,25
Acide nitrique dilué R	2,0	5,0	2,0	5,0	2,0	5,0	2,0	5,0
Eau	1,50	3,75	0,10	0,25	1,30	3,25	1,10	2,75
Solution de nitrate d'argent R2	0,4	1,0	0,4	1,0	0,4	1,0	0,4	1,0

Résultats :

- Un liquide est limpide si sa limpidité correspond à celle de l'eau ou du solvant utilisé.

- Un liquide est très faiblement opalescent si son opalescence n'est pas plus prononcée que celle de la solution A¹ ou B¹

- Un liquide est faiblement opalescent si son opalescence, plus forte que dans le cas précédent, n'est pas plus prononcée que celle de la solution A² ou B²

- Un liquide est opalescent si son opalescence, plus forte que dans le cas précédent, n'est pas plus prononcée que celle de la solution A³ ou B³.

- Un liquide est très opalescent si son opalescence, plus forte que dans le cas précédent, n'est pas plus prononcée que celle de la solution A⁴ ou B⁴

1.5 - pH de solution aqueuse

Le pH est déterminé par potentiométrie, mais peut être apprécié par colorimétrie :

- soit à l'aide de papier indicateur
- soit à l'aide de solutions de comparaisons

. Principe de la méthode des comparaisons, plus précise: La détermination repose sur la comparaison du liquide à examiner, additionné de l'indicateur approprié, avec les teintes de solutions de pH connus, additionnés du même indicateur à la même concentration.

Les indicateurs couvrant une échelle de pH de 1,2 à 11,4 sont mentionnés dans le tableau suivant :

Indicateur	Zone de pH	Coloration
Bleu de thymol	1,2 - 2,8	rouge à jaune
Bleu de bromophénol	2,8 - 4,4	jaune à bleu
Rouge de méthyle	4,4 - 6,0	rouge à jaune
Bleu de bromothymol	5,8 - 7,4	jaune à bleu
Rouge de crésol	7,0 - 8,6	jaune à rouge
Bleu de thymol	8,0 - 9,6	vert olive à bleu
Jaune d'alizarine	9,8 - 11,4	jaune pâle à jaune brun

2 - ESSAIS LIMITES

Les essais limites des médicaments sont prescrits par la Pharmacopée. Ils consistent en la recherche des impuretés courantes.

En général, cet essai se fait par comparaison entre la réaction donnée par une certaine quantité d'impuretés et celle donnée par la substance à tester et dont la prise d'essai est fixée dans chaque monographie.

La quantité d'impuretés tolérée par l'essai limite est exprimée en ppm (parties par million) ou en pourcentage si la limite est supérieure à 500 ppm.

Les essais sont effectués sur une solution du médicament à contrôler préparée selon les indications de la Pharmacopée.

2.1 - Essai limite des sulfates

Dans un tube à essais, ajouter successivement sans cesser d'agiter :

- | | |
|-------------------------------------|---------|
| - solution à 10 ppm de sulfate | 1,5 ml |
| - alcool à 95° | 0,75 ml |
| - solution de chlorure de baryum R' | 0,50 ml |
| - acide acétique | 0,25 ml |

Continuer d'agiter 30 secondes, ajouter ensuite :

- | | |
|-----------------------|-------|
| - solution à examiner | 15 ml |
|-----------------------|-------|

Acidifier par 0,3 ml d'acide acétique.

Préparer le témoin avec :

- | | |
|-------------------------------------|---------|
| - solution à 10 ppm de sulfate | 15 ml |
| - alcool à 95° | 0,75 ml |
| - solution de chlorure de baryum R' | 0,50 ml |
| - acide acétique | 0,25 ml |

Après 5 minutes, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci ne devra pas être plus intense que celle du témoin.

2.2 - Essai limite du zinc

Dans un tube à essais, introduire :

- | | |
|---|------------|
| - solution à examiner | 10 ml |
| - solution de ferrocyanure de potassium (R) | II gouttes |

Préparer le témoin avec :

- Solution à 10 ppm de zinc 10 ml
- acide acétique I goutte
- solution de ferrocyanure de potassium (R) II gouttes

Après 30 minutes, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci ne devra pas être plus intense que celle du témoin.

2.3 - Essai limite du fer

Dans un tube à essais, mélanger :

- solution à examiner 5 ml
- eau distillée 5 ml
- acide chlorhydrique concentré 1 ml
- ferrocyanure de potassium à 10 % V gouttes

Préparer le témoin avec :

- solution à 1 ppm de fer 10 ml
- acide chlorhydrique concentré 1 ml
- ferrocyanure de potassium à 10 % V gouttes

Après 15 minutes, si la solution à examiner présente une coloration bleue, celle-ci ne devra pas être plus intense que celle du témoin.

2.4 - Essai limite du plomb

Dans un tube à essais introduire :

- réactif au thioacétamide 1,2 ml
 - solution à examiner 12 ml
 - tampon pH = 3,5 2 ml
- Mélanger immédiatement.

Préparer le témoin avec :

- réactif au thioacétamide 1,2 ml
- solution à 1 ppm de plomb 10 ml
- solution à examiner 2 ml
- tampon pH 3,5 2 ml

Après 5 minutes, la solution à examiner ne devra pas présenter une coloration brune plus intense que celle du témoin.

Analysen-Zertifikat Certificat d'Analyse Analysis Certificate Certificado de Análisis

Product : Thionidazine hydrochloride

Batch : 92105

Country : F R A N C E

Order : 2204590/001

Date of release : 26.02.92

Specification/Monograph : 3060126

003692

Tests	Requirements	Results
Appearance	white or almost white, cryst. powder	complies
Odour	odourless to faint odour	complies
Identity: - thionidazine (TLC) - IR spectrum	positive like reference	positive complies
Solution: - clarity - colour	clear see specification	complies complies
pH value	4.2 - 5.2	4.7
Melting point	159.0 - 165.0 degr.C	162.8 degr.C
By-products: - sum of all	max. 0.5 %	ca. 0.05 %
Heavy metals	max. 20 ppm	< 20 ppm
Selenium	max. 2 ppm	< 1 ppm
Loss on drying	max. 0.5 %	0.1 %
Sulphated ash	max. 0.1 %	0.00 %
Assay (potentiom.)	99.0 - 101.0 %	100.2 %
Particle size	90 % (w/w) < 300 my 99 % (w/w) < 450 my	90 % < 120 my 99 % < 279 my

Conclusion : Complies with the specification

Remark :

Basle, 09.06.92

ANTIDEPRESSEURS

Ils sont répartis en deux groupes :

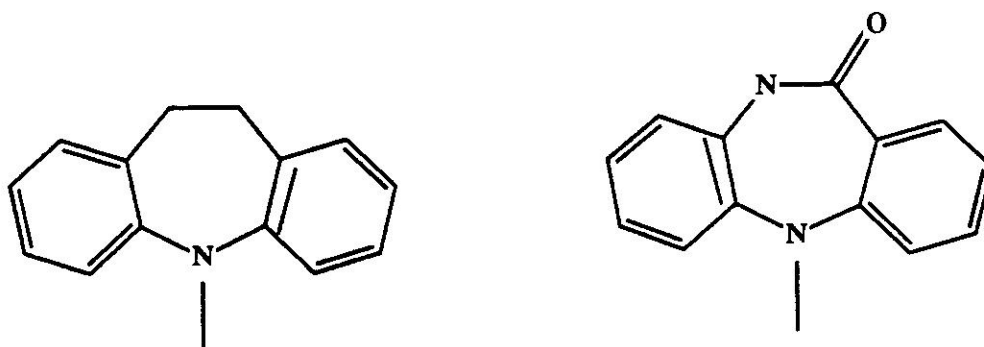
- les antidépresseurs tricycliques
- les inhibiteurs de monoamine oxydase IMAO

I - LES ANTIDEPRESSEURS TRICYCLIQUES

Les composés actifs appartiennent à quatre familles chimiques :

- 1) Dibenzo (b, f) azépines
- 2) Dibenzodiazépines
- 3) Dibenzo (b, e) oxépines
- 4) Dibenzocycloheptadiènes

Les dérivés que nous nous proposons d'étudier ont été choisis parmi les dibenzoazépines et dibenzodiazépines.



Ce sont en général des poudres blanches ou blanc-jaunâtre, à saveur brûlante, provoquant une anesthésie de la langue. Les échantillons possèdent des points de fusion caractéristiques permettant de les différencier.

Ces médicaments présentent des colorations spécifiques en présence de divers réactifs oxydants et acides.

Ils cristallisent sous forme de picrates dont la coloration et le point de fusion sont caractéristiques.

Ces dérivés tricycliques sont le plus souvent salifiés sous forme de chlorhydrates (sauf la Trimipramine).

Une méthode d'identification par chromatographie sur couche mince utilise comme système de solvants : ammoniacque, benzène, dioxane (5 : 60 : 35) ; on révèle à l'aide d'une solution d'iodoplatinate de potassium.

Les méthodes de dosage utilisées sont l'acidimétrie en milieu non aqueux et la complexométrie après précipitation par l'iodure de cadmium.

II - LES INHIBITEURS DE MONOAMINE OXYDASE (IMAO)

Trois fonctions chimiques peuvent être présentes dans ces molécules : la fonction hydrazide, hydrazine ou amine.

Ce sont des poudres blanches caractérisées par leur pouvoir réducteur vis-à-vis de la liqueur cuproalcaline à ébullition ou des ions ferriques.

Les produits peuvent être différenciés par chromatographie, par leur point de fusion, l'anion de salification, la présence du noyau pyridine dans la molécule.

MANIPULATION

Les échantillons des deux groupes peuvent être différenciés par une réaction utilisant l'acide phosphorique et les sels cériques.

Parmi les antidépresseurs tricycliques utilisés nous avons choisi à titre d'exemples :

- Clomipramine chlorhydrate (ANAFRANIL*)
- Désipramine chlorhydrate (PERFOFRAN*)
- Dibenzépine chlorhydrate (NOVERIL*)
- Imipramine chlorhydrate (TOFRANIL*)
- Trimipramine maléate acide (SURMONTIL*)

- Noter les caractères organoleptiques de la substance : aspect, odeur
- Observer la teinte du produit en lumière de Wood
- Etablir les solubilités dans l'eau, l'alcool et l'acétone
- Déterminer les points de fusion

DETERMINATION DU GROUPE

- Réaction "phosphorique-cérique"

Dans un tube à essais, introduire quelques mg de substance, les dissoudre dans 2 ml d'acide orthophosphorique, puis ajouter quelques cristaux de nitrate de cerium : observer la coloration.

- A - Coloration bleue intense ou verte : dérivés tricycliques
 B - Pas de coloration sensible : dérivés IMAO

1 - Antidépresseurs tricycliques :

1.1 - Réactions de caractérisation

1.1.1 - Essai à l'acide nitrique

Dans un tube à essais, dissoudre quelques mg de substance dans 2 cm³ d'acide concentré et observer la coloration.

1.1.2 - Identification de l'anion

Dissoudre 10 mg de substance dans 5 cm³ d'acide nitrique à 20 % et ajouter quelques gouttes de nitrate d'argent à 5 % : noter l'apparition éventuelle d'un précipité.

1.2 - Diagnose différentielle

1.2.1 - Coloration bleue intense fugace virant à l'ambre foncé dans l'essai à l'acide nitrique

a) Pas de précipité lors de l'identification de l'anion :

→ Trimipramine maléate acide.

Caractérisation :

- peu soluble dans l'eau, l'alcool ou l'acétone
- soluble dans le chloroforme
- F° = 140° - 144°C

b) Précipité lors de l'identification de l'anion : chlorhydrate

α) F = 172°C

β) F = 194°C

γ) F = 210°C

α) Imipramine
 β) Clomipramine
 γ) Désipramine

1.2.2 - Coloration vert-jaune fugace virant au marron

→ Dibenzépine.

Caractérisation :

- Poudre très soluble dans l'eau
- F° = 235-45°
- Dissoudre quelques mg de substance dans 5 cm³ d'acide nitrique au 1/10 ; porter au bain-marie bouillant pendant 10 minutes ; la solution se colore peu à peu en jaune orangé et il apparaît un précipité de même couleur

ACIDE ACETYL SALICYLIQUE

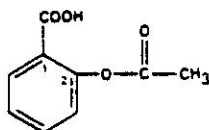
La manipulation comporte :

- vérification des données de la fiche de diagnose rapide
- dosage selon la Pharmacopée Française

ACÉTYLSALICYLIQUE (ACIDE)

Acidum acetylsalicylicum

ASPIRINE



$C_9H_8O_4$

PM 180,2

L'acide acétylsalicylique contient au minimum 99,5 pour cent d'acide acétoxy-2 benzoïque, calculé par rapport à la substance desséchée.

Caractères. — Poudre cristalline blanche, ou cristaux incolores, sensiblement inodores et de saveur acide, peu solubles dans l'eau, facilement solubles dans l'alcool, solubles dans l'éther et le chloroforme.

Point de fusion instantanée: 141° à 144°.

Identification. — A — Chauffez à l'ébullition pendant 3 mn 0,2 g d'acide acétylsalicylique avec 4 ml de solution diluée d'hydroxyde de sodium (R) et refroidissez. Acidifiez avec 5 ml d'acide sulfurique dilué (R). La solution donne un précipité. Filtrez, lavez et desséchez à 100°-105°. Le précipité blanc cristallin d'acide salicylique présente un point de fusion voisin de 158°.

B — Chauffez le filtrat obtenu au cours de l'essai d'identification A avec 2 ml d'alcool (R) et 2 ml d'acide sulfurique (R). Il se dégage une odeur d'acétate d'éthyle.

Essai. — 1° *Aspect de la solution.* — Dissolvez 1,0 g d'acide acétylsalicylique dans 9 ml d'alcool (R). La solution devra être limpide, procédé A, page II - 351, et incolore, procédé I, page II - 338.

PHARMACO
CHIMIE
LABORATOIRE

2° *Acide salicylique.* — Dissolvez 0,10 g d'acide acétylsalicylique dans 5 ml d'alcool (R) et 15 ml d'eau. Ajoutez 0,05 ml de solution de chlorure ferrique (R) à 0,5 pour cent p/v. Après une minute, la solution ne devra pas être plus fortement colorée qu'une solution témoin préparée simultanément par addition de 4 ml d'alcool (R), de 0,1 ml d'acide acétique (R), de 15 ml d'eau et de 0,05 ml de solution de chlorure ferrique (R) à 0,5 pour cent p/v, à 1 ml d'une solution de 5,0 mg d'acide salicylique (R) dans 100 ml d'alcool (R).

3° *Chlorures.* — Ajoutez à 1,5 g d'acide acétylsalicylique 6 ml d'alcool (R) et complétez à 50 ml avec de l'eau. Agitez, puis filtrez. 15 ml du filtrat devront satisfaire à l'essai limite des chlorures, page II - 260 (110 ppm).

4° *Métaux lourds.* — Dissolvez 0,75 g d'acide acétylsalicylique dans 9 ml d'acétone (R) et complétez à 15 ml avec de l'eau. 12 ml de la solution devront satisfaire à l'essai limite des métaux lourds, page II - 235 (20 ppm). Préparez le témoin à l'aide de la solution à 1 ppm de plomb Pb (R).

5° *Sulfates.* — Prélevez 10 ml du filtrat obtenu au cours de l'essai des chlorures et complétez à 15 ml avec de l'eau. La solution devra satisfaire à l'essai limite des sulfates, page II - 299 (500 ppm).

6° *Substances facilement carbonisables.* — Dissolvez 0,20 g d'acide acétylsalicylique dans 5 ml d'acide sulfurique (R). Après 5 mn, la solution ne devra pas être plus fortement colorée que la solution témoin JB5, procédé 1, page II - 338.

7° *Perte à la dessiccation.* — Déterminée sous vide comme il est indiqué page II - 353, sur 1,00 g d'acide acétylsalicylique, la perte à la dessiccation ne devra pas être supérieure à 0,5 pour cent.

8° *Cendres sulfuriques.* — Déterminé comme il est indiqué page II - 259, sur 1,0 g d'acide acétylsalicylique, le taux des cendres sulfuriques ne devra pas être supérieur à 0,1 pour cent.

DOSAGE. — Dissolvez dans 10 ml d'alcool (R) une prise d'essai exactement pesée, voisine de 0,500 g. Ajoutez 0,2 ml de solution de phénolphthaleïne (R) et titrez la solution par l'hydroxyde de sodium 0,1N.

1 ml d'hydroxyde de sodium 0,1N correspond à 18,02 mg de $C_9H_8O_4$.

Ajoutez au mélange neutralisé 50,0 ml d'hydroxyde de sodium 0,1N et chauffez à reflux pendant 15 mn. Sur le réfrigérant, adaptez un tube à dessiccation rempli d'hydroxyde de sodium (R). Laissez refroidir et titrez l'hydroxyde de sodium libre par l'acide chlorhydrique 0,1N. La différence entre les volumes d'hydroxyde de sodium 0,1N nécessaires pour le premier et le second titrage, ne doit pas excéder 0,40 ml pour une prise d'essai de 0,500 g.

divisez les quantités par 2

Incompatibilités. — Amidopyrine - Antipyrine - Carbonate monosodique - Gomme arabique - Hexamine - Oxyde de magnésium - Perborate de soude - Phénacétine - Sels de quinine.

II - Fiche de diagnose rapide

ACIDE ACÉTYLSALICYLIQUE (Aspirine)

Caractères organoleptiques.

Cristaux ou paillettes incolores, ou granulés ou poudre blanche, à saveur acidulée particulière.

Solubilités.

- Peu soluble dans l'eau.
- Assez soluble dans l'alcool.

Réactions.

Dans un tube à essais, introduire une pincée de substance, 10 ml d'eau et une goutte de perchlorure de fer : on n'observe aucune coloration sensible immédiate. Porter au bain-marie bouillant pendant 2 minutes, puis ajouter 2 gouttes d'acide chlorhydrique au 1/10 : on observe une coloration violette très nette.

ANTIDEPRESSEURS

Date :

Flacons n° :

NOM :

Groupe :

• **IMAO** : flacon n°

• **Antidépresseur tricyclique** : flacon n°

Identification :

ACIDE ACETYL SALICYLIQUE

flacon n° :

• **Caractères organoleptiques :**

• **Solubilités :**

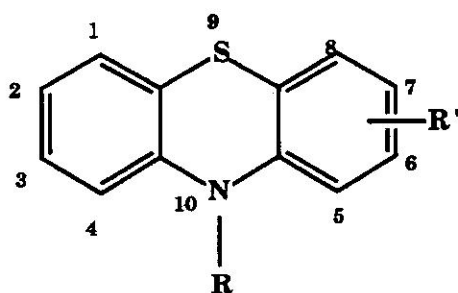
• **Réaction :**

• **Dosage :**

DERIVES DE LA PHENOTHIAZINE

STRUCTURE

Les dérivés de la Phénothiazine présentent la structure générale suivante :



Le substituant R en 10 est constitué par une chaîne aminé, où l'atome azote, généralement terminal, est séparé de l'azote du cycle par deux ou trois chaînons carbonés, éventuellement porteurs de ramifications.

Le substituant R', qui peut être un simple hydrogène, est généralement fixé en 6 sur le noyau.

ACTIVITE

Les médicaments dérivés de la Phénothiazine peuvent se rattacher à de grands groupes pharmacodynamiques :

- antihistaminiques . Ex : Prométhazine PHENERGAN,
- neuroplégiques. Ex : Chlorpromazine LARGACTIL

CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES

Ce sont généralement des poudres blanches, inodores, pouvant présenter des colorations en lumière de Wood.

Les points de fusion, tout au moins pour ceux inférieurs à 200°, sont assez nets et discriminatifs pour de nombreux composés.

Le noyau phénothiazine est responsable de diverses réactions colorées, notamment avec l'acide sulfurique concentré et avec l'acide nitrique à 2 %.

Les solubilités varient selon la nature des substituants et l'ion salifiant s'il s'agit d'un sel .

Ces caractères physicochimiques sont à la base des réactions utilisées pour la diagnose différentielle de ces médicaments.

De plus, on pourra déceler la présence de l'azote et du soufre organique par la méthode de CASTALANA (Cf Recherche d'éléments, manipulation du méprobamate).

Enfin, il sera aisé de caractériser le chlore minéral des chlorhydrates.

Ces produits sont des bases faibles, leur dosage fera donc appel aux méthodes de la protométrie en milieu non aqueux (dans l'acide acétique anhydre).

MANIPULATION-DIAGNOSE

Parmi les dérivés phénothiaziniques, nous avons choisi les exemples suivants :

- CHLORPROMAZINE chlorhydrate (LARGACTIL*)
- FLUPHENAZINE dichlorhydrate (MODITEN*)
- LEVOMEPRIMAZINE base (NOZINAN*)
- OXOMEMAZINE chlorhydrate (DOXERGAN*)
- PROCHLORPERAZINE (TEMENTIL*)
- PROMETHAZINE (PHENERGAN*)
- PROPERICIAZINE base (NEULEPTIL*)
- THIOPROPERAZINE méthanesulfonate (MAJEPTIL*)
- THIORIDAZINE chlorhydrate (MELLERIL*)

- Noter les caractères organoleptiques de la substance
- Observer la teinte du produit en lumière de Wood
- Déterminer les solubilités dans l'eau, dans l'alcool, le chloroforme, l'éther
- Noter le point de fusion (Kofler) ; ce point de fusion est souvent imprécis pour les substances fondant au-dessus de 200°, car la fusion s'accompagne de décomposition.

2 - REACTIONS DE CARACTERISATION

2.1 - Essai à l'acide sulfurique

Dans un tube à essais, introduire 5 ml d'acide sulfurique et quelques cg de substance. Agiter : on observe généralement une coloration immédiate qui peut être stable ou varier dans le temps. Noter la teinte immédiate et la teinte après 30 minutes.

2.2 - Essai à l'acide nitrique

Dans un tube à essais, introduire 5 ml d'acide nitrique à 2 % et quelques cg de substance. Porter au bain-marie pendant 5 minutes : observer s'il se produit ou non une coloration.

N.B. : Conserver ces tubes à essais jusqu'à l'identification de la substance.

3 - DIAGNOSE DIFFERENTIELLE

L'essai à l'acide sulfurique permet de diviser ces substances en plusieurs groupes :

3.1 - Teinte bleu-vert immédiate virant au bleu turquoise, puis au bleu soutenu après 15 minutes environ.

→ Thioridazine chlorhydrate

Caractérisation :

- Poudre blanche à légèrement jaunâtre, soluble dans l'eau ou dans l'alcool, très soluble dans le chloroforme, insoluble dans l'éther.
- En lumière de Wood, les solutions aqueuse et chloroformique apparaissent en vert et la suspension étherée en bleu pâle
- F = 160-170°
- Dans l'essai à l'acide nitrique, on observe une coloration bleu-vert.
- Caractérisation de l'anion : dissoudre quelques cg de substance dans 5 ml d'eau et ajouter 1 ml de NO_3Ag à 5 % : on observe un louche blanc (chlorure)

3. 2 - Coloration rosée

Coloration faible, rose brunâtre même au bout de 30 minutes.

3.2.1 - *Aucune coloration sensible dans l'essai à l'acide nitrique*

→ Oxoméazine chlorhydrate

Caractérisation :

- Poudre blanche présentant une teinte jaune vert en lumière de Wood, très soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool et le chloroforme, insoluble dans l'éther.
- F = 240°-255° (imprécis : décomposition)
- Dans un tube à essais, introduire 5 ml de mélange pyridine-anhydride acétique 2 : 1 et quelques mg de substance. Porter au bain-marie pendant 10 minutes. On n'observe aucune coloration sensible, ni aucune fluorescence en lumière de Wood.
- Dissoudre quelques cg de substance dans 5 ml d'eau et ajouter 1 ml de NO₃Ag à 5 % : on observe un louche blanc (chlorure).

3.2.2 - *Coloration jaune dans l'essai à l'acide nitrique*

* F = 113-118°

→ Propériciazine base

Caractérisation :

- Poudre jaune citron, teinte jaune citron pâle en lumière de Wood.
- Insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool ou le chloroforme ; en lumière de Wood, ces solutions sont fluorescentes en jaune vert.
- Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'eau oxygénée à 10 volumes et quelques cg de substance. Porter au bain-marie pendant 5 minutes : on observe une fluorescence blanche en lumière de Wood.
- Coloration jaune dans l'essai à l'acide nitrique et une fluorescence violet clair en lumière de Wood.

* F = 224-230°

→ Thiopropérazine methanesulfonate

Caractérisation :

- Poudre blanche à reflets jaune à jaune vert, onctueuse.
- Très soluble dans l'eau : soluble dans l'alcool et le chloroforme

- En lumière de Wood, les solutions alcoolique et chloroformique sont fluorescentes en vert jaune et la solution aqueuse en ocre pâle.
- Dans un tube à essais, introduire 5 ml d'eau oxygénée à 10 volumes et quelques cg de substance. Porter au bain-marie pendant 5 minutes : on observe une fluorescence bleu clair en lumière de Wood.
- Dans un tube à essais, introduire 5 ml de mélange pyridine-anhydride acétique 2 : 1 et quelques mg de substance. Porter au bain-marie pendant 10 minutes : on observe une coloration ambre-clair et une fluorescence jaune-vert en lumière de Wood.

3.2.3- Coloration rose à brun dans l'essai à l'acide nitrique

* F = 210-220° (dec)

—→ Fluphénazine dichlorhydrate

Caractérisation :

- Poudre blanche à odeur caractéristique : teinte rose en lumière de Wood
- Très soluble dans l'eau ou dans l'alcool, insoluble dans l'éther ou le chloroforme.
- Dissoudre quelques cg de substance dans 5 ml d'eau, ajouter 1 ml de nitrate d'argent à 5 % ; on observe un louche blanc (chlorure).

3.3 - Coloration rosée, virant peu à peu au rouge stable (réaction accélérée par chauffage)

Dissoudre quelques cg de substance dans 5 ml de méthanol : ajouter 1 ml d'acide nitrique au 1/5, puis 1 ml de NO₃Ag à 5 %.

3.3.1 - Pas de louche ni de précipité

—→ Prochlorpérazine

Caractérisation :

- Poudre blanche à blanc crème, onctueuse et grenue, solubilités variables selon l'ion salifiant . Prochlorpérazine bis-méthanesulfonate : soluble dans l'eau et le chloroforme; prochlorpérazine bimaléate : insoluble dans l'eau et le chloroforme.
- F = 218 à 224° : Bimaléate
- F = 242 à 248° : Bis-méthane sulfonate
- Dans l'essai à l'acide nitrique, on observe une coloration rose pâle.
- Mise en évidence du chlore organique : dans une petite capsule, chauffer quelques cg de substance avec quelques cg de nitrate de magnésium jusqu'à cendres sensiblement blanches. Reprendre le résidu par 5 ml d'eau et 1 ml d'acide nitrique au

1/5 : introduire cette solution dans un tube à essais et ajouter 1 ml de NO_3Ag à 5 % ; on observe un louche net.

3.3.2 - Louche blanc ou précipité

* F = 193 à 200°

→ Chlorpromazine Chlorhydrate

Caractérisation :

- Poudre blanche, présentant une teinte rose violacée en lumière de Wood, très soluble dans l'eau, l'alcool ou le chloroforme, insoluble dans l'éther.
- Dans l'essai à l'acide nitrique, on observe une coloration rose.

* F = 218 à 238° (imprécis)

→ Prométhazine Chlorhydrate

Caractérisation :

- Poudre blanche présentant une teinte jaune-vert en lumière de Wood, très soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool ou le chloroforme, insoluble dans l'éther.
- Dans l'essai à l'acide nitrique on observe une coloration rose.

3.4 - Coloration mauve, virant progressivement au violet

Coloration violette dans l'essai à l'acide nitrique

→ Lévomepromazine Chlorhydrate

Caractérisation :

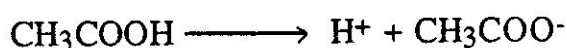
- Poudre blanche insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et le chloroforme
- F = environ 170°-175°

DOSAGE DES BASES FAIBLES - ANHYDROTITRIMETRIE

I - PRINCIPE

1.1 - Agent titrant

L'acide acétique peut fonctionner aussi bien comme donneur que comme accepteur de proton (solvant "amphiprotique"). En effet, il peut se dissocier partiellement et se comporte alors comme un acide :



Au contraire, s'il contient en solution un acide fort tel que l'acide perchlorique, l'acide acétique se comporte comme une base pour donner naissance à un acide fort : l'ion oxonium $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$:



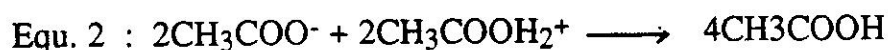
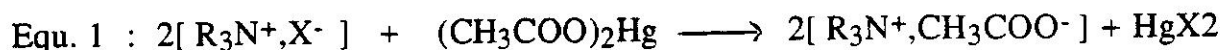
Dans une telle solution, [$\text{HClO}_4 + \text{CH}_3\text{COOH}$], le véritable agent de titration est l'ion $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$, qui peut céder son proton à une base même relativement faible.

1.2 - Cas des sels halogénés de bases organiques

A cause de la compétition entre la basicité de l'halogénure et celle des ions perchlorates, le dosage ne peut être quantitatif qu'en ayant recours à un artifice.

La méthode est basée sur le fait que l'acétate ou les halogénures mercuriques ne sont pas dissociés dans l'acide acétique et ne peuvent donc pas être titrés dans ce milieu.

L'addition d'acétate mercurique $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Hg}$ a pour effet de remplacer l'ion halogénure du sel organique par l'ion acétate (équation 1). Cet ion acétate peut alors capter le proton de l'ion oxonium (équation 2) :



Les équations suivantes permettent d'illustrer les réactions mises en jeu au cours du dosage des sels halogénés de bases organiques (exemple Phénothiazines) par l'acide perchlorique en milieu acétique.

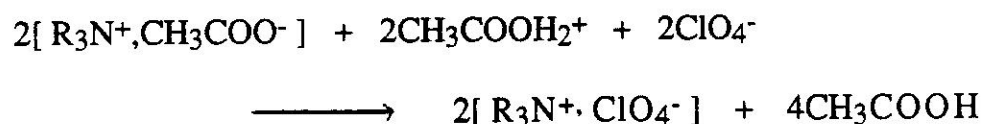
Formation de l'ion oxonium :



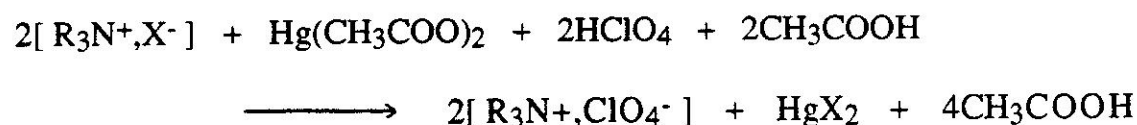
Remplacement de l'ion halogénure par l'ion acétate :



Capture du proton de l'ion oxonium par l'ion acétate :



Equation globale résultante :



II - MODE OPERATOIRE

Dissoudre une prise d'essai voisine de 0,25 g de substance à doser dans l'acétone ; ajouter 10 ml de solution d'acétate mercurique puis quelques gouttes de solution acétonique d'hélianthine.

Titre par l'acide perchlorique de titre voisin de 0,05 N.

Effectuer au préalable un essai témoin.

Remarque importante : Opérer avec un matériel parfaitement propre et sec : le laver à l'acétone.

III-CALCULS

Exprimer la teneur pour cent en produit pur dans l'échantillon .

PHENOTHIAZINES

Date :

Flacons n° : ... vert, ... noir

NOM :

Groupe :

• **Flacon étiquette verte**

Identification :

• **Flacon étiquette noire**

dosage

poids pesé :

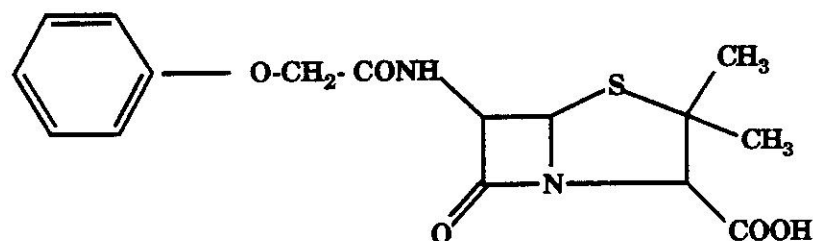
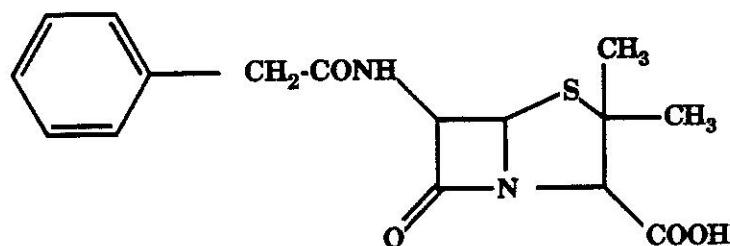
Calcul :

Pourcentage de pureté :

PENICILLINES

Le médicament remis à l'étudiant peut être l'une quelconque des pénicillines suivantes :

- benzylpénicilline potassique (Pénicilline G)
(Pharmacopée Française, t. I, p. 85-87)
- phénoxyéthyl pénicilline (Pénicilline V. semi-synthétique)
(Pharmacopée Française, t. I, p. 466-46)



Ces deux pénicillines figurent aussi bien à la Pharmacopée Française, t. VIII, 1965 et à la Pharmacopée Française t. IV, 1972. Les textes photocopiés sont ceux de la Pharmacopée IX, 1972.

Remarque importante : les travaux pratiques seront limités aux essais chimiques et ne comporteront ni l'essai de stérilité, ni l'essai des pyrogènes cependant indispensables pour compléter les essais d'une pénicilline comme de tout antibiotique.

ESSAIS

I - REACTIONS COLOREES DES PENICILLINES

Traiter 2 mg de la substance à examiner par 2 mg de sel sodique d'acide chromotropique (R) et 2 ml d'acide sulfurique (R). Plonger le mélange dans un liquide approprié chauffé à 150°. Agiter la solution et l'examiner toutes les 30 s au cours des 4 mn qui suivent. Elle présente les colorations indiquées dans le tableau ci-dessous.

Durée exprimée en minutes	Ampicilline ampicilline sodique Ampicilline trihydratée	Benzyl-pénicilline - potassique - sodique	Phénoxyéthyl pénicilline
0	incolore	jaune	incolore
1/2	incolore	jaune	incolore
2	pourpre	orangé jaune	pourpre
3 1/2	violet	orangé ou éven- tuellement carbonisation	bleu foncé
4	carbonisation		bleu foncé

2 - REACTIONS DE CARACTERISATION DE LA BENZYL PENICILLINE SODIQUE OU POTASSIQUE

Dissoudre 0.1 g de substance dans 5 ml d'eau et ajouter une goutte d'acide chlorhydrique. Il se forme un précipité blanc.

DOSAGE SPECTROPHOTOMETRIQUE

Les spectres ultra-violetes correspondent à des modifications dans la situation d'électrons, plus mobiles que les autres (électrons π). Les bandes d'absorption observées correspondent donc à la présence dans la molécule de groupements insaturés.

Les médicaments susceptibles d'être dosés par spectrophotométrie ultra-violette sont extrêmement nombreux : citons les pénicillines, les tétracyclines, les stéroïdes, les barbituriques.

Cette méthode de dosage est très couramment utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Application : dosage de la benzylpénicilline .

1) Principe

Le spectre d'absorption du benzylpénicillinate de sodium présente deux maxima d'absorption à 263 nm et 257 nm.

La différence de densité optique DO à ces deux longueurs d'ondes est représentative de la concentration en benzylpénicilline de la solution testée : Une concentration inconnue en benzylpénicilline sera déterminée en utilisant une courbe - étalon (concentrations en pénicilline en fonction des différences de densité optique à 263 et 257 nm).

Connaissant alors la concentration en benzylpénicilline (pure) de votre solution à x % du produit à doser, vous pourrez alors déterminer le pourcentage de pureté de votre échantillon.

2) Etablissement de la courbe étalon

Dissoudre une prise d'essai de 0,20 g exactement pesée de benzylpénicillinate-étalon dans 5 ml d'eau distillée.

Compléter à 100 ml avec de l'éthanol à 95°.

Préparer à l'aide de cette solution-mère, en la diluant par de l'éthanol à 95°, une série de solutions-étalons ayant les concentrations suivantes :

Concentrations (en g. p. 100 ml)	Quantité de solution mère (en ml)	Ethanol à 95°
0,12	6	4
0,10	5	5
0,08	4	6
0,06	3	7
0,04	2	8
0,02	1	9

Déterminer dans l'heure qui suit la préparation, à l'aide d'un spectrophotomètre et en cuve de quartz de 1 cm, les densités optiques de ces solutions à 263 et 257 nm par rapport à l'éthanol à 95°.

Calculer les différences ($D_{263} - D_{257}$) et construire la courbe absorption-concentration.

2) Dosage de l'échantillon

Dissoudre une prise d'essai p. exactement pesée, voisine de 0,1 g de benzylpénicillinate de sodium à doser dans 5 ml d'eau distillée et compléter à 100 ml avec de l'éthanol à 95°.

Déterminer la différence de densité optique à 263 et 257 nm. En déduire la concentration dans la solution en se référant à la courbe étalon.

Donner la teneur pour cent en benzylpénicillinate de sodium du produit essayé.



PENICILLINES

Date :

Flacons n° :

NOM :

Groupe :

*** Diagnose :**

*** Dosage benzylpénicilline**

. Courbe d'étalonnage sur feuille millimétrée

. tableau :

. Poids pesé :

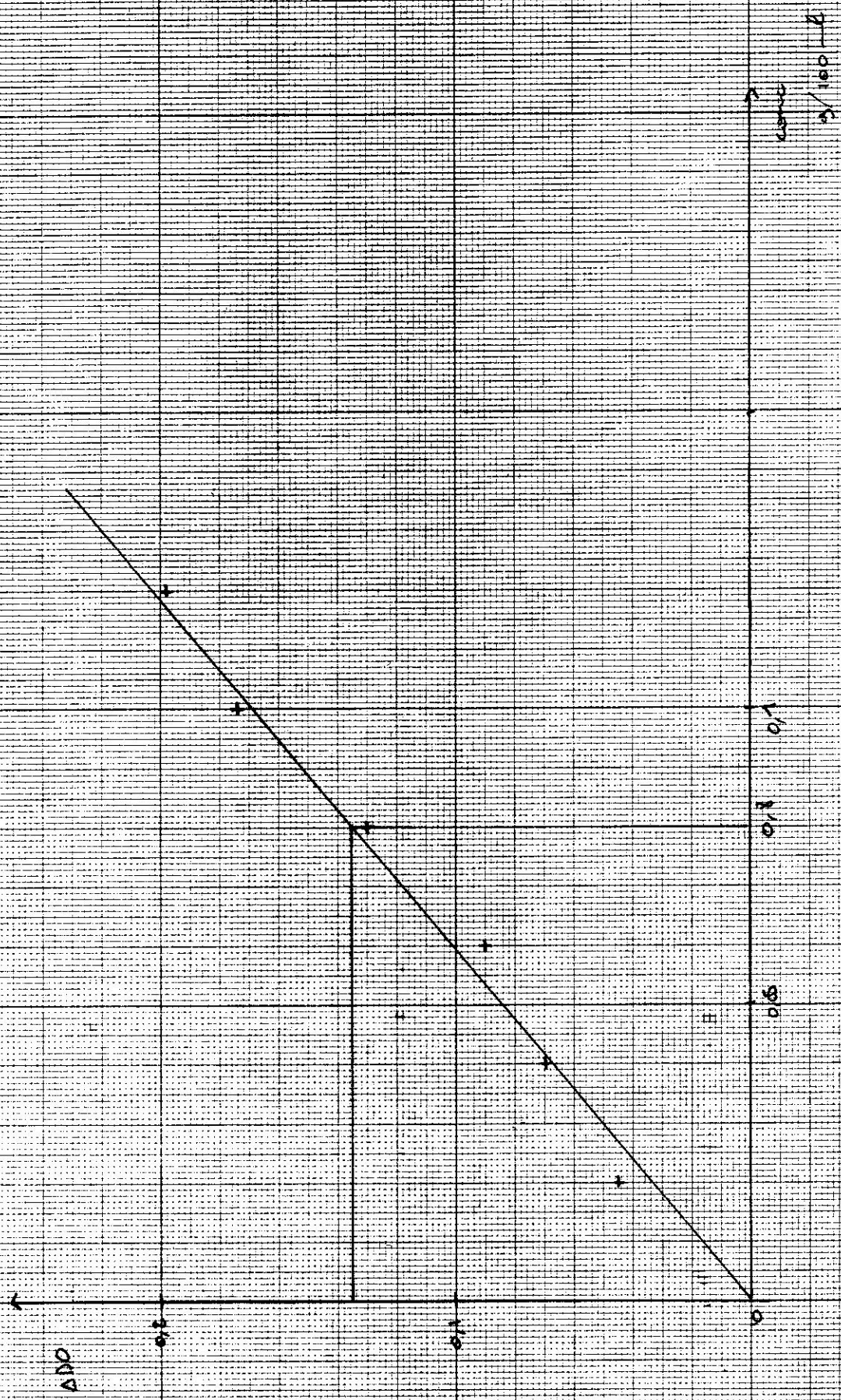
. Calcul :

. Pourcentage de pureté :



NOM :

GROUPE :



100%

100%

100%

100%

100%

100%

ADD

T

TABLE DES MATIERES

	Page
Remarques générales	1
Méprobamate	5
Sulfamides antibactériens	13
Essais des médicaments	20
Antidépresseurs	29
Acide acétyl salicylique	33
Dérivés de la phénothiazine	36
Pénicillines	45