

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
Université du 20 août 1955 - SKIKDA



Faculté des Sciences
Département de Chimie

Mémoire de Master

Filière : Chimie - Spécialité : Electrochimie-Corrosion

Présenté par :

BOUHAROUF Loubna et LEZGHED Meriem

THEME

**Dosage d'un antibiotique en milieu pharmaceutique
(CLARITAL®, 500mg) par différentes méthodes physico-
chimiques (électrochimiques et spectrophotométrie)**

Soutenu le : 03 Juillet 2022

Devant le jury :

Dr. H. FERKOUS	MCA	Univ. de Skikda	Présidente
Dr. N. BENACHOUR	MCA	Univ. de Skikda	Rapportrice
Dr. A. MAHMOUDI	MCA	Univ. de Skikda	Co-Rapporteur
Dr. A. DELIMI	MCA	Univ. de Skikda	Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté de mener à bien notre travail.

Ainsi que nos familles de nous avoir soutenus et supporter pendant notre cursus universitaire.

Dr Naima BENACHOUR

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de diriger et d'encadrer ce travail. Nous vous remercions pour votre disponibilité, vos conseils précieux et votre soutien pendant la réalisation de ce mémoire. Nous espérons avoir été à la hauteur de vos attentes. Nous garderons un excellent souvenir de votre extrême gentillesse.

Nous n'aurons pas assez de ces quelques lignes pour vous exprimer nos sincères remerciements et notre profond respect. Vous n'avez pas cessé de nous encourager.

Merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble, pour votre soutien et votre serviabilité.

Dr Abdelghani MAHMOUDJ

Un grand merci à celle qui n'a pas cessé de nous encourager pour réaliser ce travail du début jusqu'à sa fin. Nos remerciements les plus sincères pour votre aide, votre écoute et vos conseils toujours pertinents. Veuillez trouver ici l'expression de

*notre respectueuse
considération et notre profonde admiration pour toutes vos
qualités scientifiques et humaines.*

*Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre
profonde gratitude.*

Dr Hana FERKOUS

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous
faites en acceptant la présidence de notre jury de mémoire, d'avoir
accepté d'évaluer ce*

*travail et pour toutes vos remarques et critiques, Nous vous
remercions de votre confiance et
de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à notre travail. Nous
vous prions d'accepter*

*l'expression de notre plus profond respect et le témoignage de
notre sincère reconnaissance.*

Dr Amel DELJMJ

*Votre présence parmi les membres du jury nous honore. Il était
important à nos yeux de
pouvoir présenter ce travail à vous. Nous vous remercions pour
l'intérêt que vous portez à ce*

*travail en acceptant d'examiner notre mémoire. Veuillez accepter,
l'assurance de
notre estime et notre profond respect.*

Ingénieure de laboratoire Nora

*Nous remercions aussi l'ingénieure de laboratoire 113 de la
faculté de sciences, qui n'hesite jamais de nous diriger et conseiller.*

Dédicace

Je dédie ce travail

A Mes chers parents BOUHAROUF Ahcen et HARBI Soraya

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

A mes très chères sœurs (Nesrrine,Amel)

Merci pour votre présence et vos conseils pendant toutes ces années. Pour tout votre amour et pour être toujours là pour moi dans tous les domaines.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon amour fraternel, de mon profond attachement et mes souhaits de succès et de bonheur pour chacun de vous. Jamais je n'oublierai l'appui que vous me prodiguez chaque fois que j'en ai besoin. Que Dieu vous protège.

A mon beau-frère Anis

Plus qu'un beau-frère, tu étais toujours là pour moi, pour me soutenir, m'encourager, j'espère pouvoir te récompenser un jour pour tous tes efforts.

A mes neveux (Achref, kosay et Joud, Mouataz)

Je vous aime plus que tous au monde, que dieu vous garde pour moi mes chers petits anges je vous aime très fort. ♥

A ma promotrice Dr BENACHOUR et mon copromoteur Dr MAHMOUDI

Vous n'avez pas cessé de m'encourager. Merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble, pour votre soutien et votre serviabilité.

Pour mes très chères amies et amis

SOZIRNA

Dédicace

C'est avec profond gratitude et sincère mots que je dédie ce travail

*À mes très chers parents, mes chères et adorables sœurs et frère, mon
marie et ma petite fille et à toute ma belle famille*

*Aucun mot ne saurait exprimer mon amour éternel, mon respect, et ma
considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon
instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez et
j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*J'espère que ce travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le
fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai
jamais assez.*

Que dieu vous procure bonne santé, bonheur et longue vie.

*Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le
tout puissant, vous protège et vous garde.*

Meriem

Résumé

L'importance thérapeutique des macrolides suscitent un grand intérêt pour le développement de méthodes appropriées pour leur détection et leur quantification dans les médicaments. Dans ce cadre, la présente étude décrit le développement de deux méthodes en utilisant la méthode spectrophotométrique et deux méthodes électrochimiques pour la détermination quantitative de la clarithromycine en milieu pharmaceutique.

En premier, une méthode spectrophotométrique UV a été utilisée pour le dosage de ce macrolide dans le médicament étudié sur la base de la formation de complexes de cet antibiotique avec le DHB-S en milieu alcalin à 25 °C avec une détection à 380nm. La loi de B er-Lambert a été respectée dans la gamme de concentrations allant de 1,0 à 30  g/mL.

Par la suite, deux méthodes électrochimiques ont été réalisées, en utilisant la voltamétrie cyclique de potentiel de balayage imposée de : [-0,5 ; +0,6V] /Ag/AgCl, KCl et d'une vitesse de balayage 0,1 V s⁻¹. Alors que, la voltammétrie impulsionnelle différentielle a été appliquée au potentiel de balayage imposée de : [0,0 ; +0,9V] /Ag/AgCl, KCl et d'une vitesse 0,1V s⁻¹.

Les méthodes proposées ont été appliquées pour l'analyse de clarithromycine sous forme CLARITAL®. Les résultats sont en accord avec les valeurs mentionnées sur l'étiquette (rendement > 95,0%). Donc, on peut conclure que les méthodes développées ont une grande valeur pratique dans la quantification de ce macrolide en milieu pharmaceutique.

Abstract

The therapeutic importance of macrolides arouses great interest in the development of appropriate methods for their detection and quantification in drugs. In this context, the present study describes the development of two methods using the spectrophotometric method and two electrochemical methods for the quantitative determination of clarithromycin in a pharmaceutical medium.

First, a UV spectrophotometric method was used for the determination of this macrolide based on the formation of complexes between this antibiotic and DHB-S in an alkaline medium at 25°C with UV detection at 380nm. The Beer-Lambert law was respected in the concentration range from 1.0 to 30  g/mL.

Subsequently, two electrochemical methods were carried out, using the cyclic voltammetry of imposed scanning potential of: [-0.5; +0.6V] /Ag/AgCl, KCl and a sweep rate of 0.1 V s⁻¹. Whereas, differential pulse voltammetry was applied to the imposed scanning potential of: [0.0; +0.9V] /Ag/AgCl, KCl and a speed of 0.1V s⁻¹.

The proposed methods were applied for the analysis of clarithromycin in CLARITAL® form. The results were in agreement with the values mentioned on the label (yield > 95.0%). Therefore, it can be concluded that the developed methods have a great practical value in the quantification of this macrolide in pharmaceutical medium.

ملخص

تثير ال همية العلاجية للماكروليدات اهتماماً كبيراً في تطوير ال ساليب المناسبة لاكتشافها وتحديد كميتها في ال دوية. في هذا السياق ، تصف الدراسة الحالية تطوير طريقتين باستخدام طريقة القياس الطيفي وطريقتين كهروكيميائيتين للتقدير الكمي للكلاريثروميسين في وسط صيدلاني.

أولاً ، تم استخدام طريقة القياس الطيفي لل شعة فوق البنفسجية لتحديد هذا الماكروليد اعتمادا على تكوين معقدات بين هذا المضاد الحيوي و المركب DHB-S في وسط اساسي عند 25 C مع الكشف UV عند 380nm . تم احترام قانون بيرلمبرت في مجال التراكيز من 1.0 الى 30  g/mL.

بعد ذلك ، تم تطبيق طريقتين كهروكيميائيتين باستخدام مقياس الجهد الدوري ل مكانيات المسح المفروض: [-0.5 + 0.6 فولت] / Ag / AgCl ، KCl وسرعة 0.1V s⁻¹ . في حين تم تطبيق قياس الجهد التفاضلي للنبضات على جهد الاجتياح المفروض: [0.0 + 0.9 فولت] / Ag / AgCl ، KCl وسرعة 0.1V s⁻¹.

تم تطبيق الطرق المقترحة لتحليل كلاريثروميسين في شكل CLARITAL®. النتائج كانت تتفق مع القيم المذكورة على الملصق (المردود < 95.0%). لذلك ، يمكن استنتاج أن الطرق المطورة لها قيمة عملية كبيرة في تحديد كمية هذا الماكروليد في الوسط الصيدلاني.

Table des matières

Remerciements et dédicaces	
Résumé	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction général.....	2

PREMIER PARTIE : ETUDE THEORIQUE

CHAPITRE I

Généralité les antibiotiques et les médicaments

I.1. Introduction.....	5
I.1.2.L'histoire des Antibiotiques.....	5
I.1.3.Définition des Antibiotiques.....	6
I.1.4.Classification des Antibiotiques.....	6
I.1.5. Les Antibiotiques d'usage courant en milieux hospitalier.....	8
I.1.6. Les macrolides.....	9
I.1.7. Clarithromycine.....	11
I.2. Généralités sur les médicaments et présentation du CLARITAL®.....	13
I.2.1. Introduction.....	13
I.2.2.Définition	13
I.2.3.Origine	14
I.2.4.Composition et conditionnement des médicaments.....	15
I.2.5. La mise en forme d'un médicament.....	16
I.2.6.Différents types de médicaments.....	17
I.2.7.Développement du médicament	18
I.2.8.Cycle de vie des médicaments	20

I.2.9. Dénomination des médicaments.....	20
I.2.10. Généralités sur le médicament CLARITAL®, 500mg	21

CHAPITRE II

Aperçu sur les méthodes physico-chimiques d'analyse

II.1. Introduction.....	23
II.2. Spectrophotométrie UV-Visible.....	23
II.2.1. Principe de fonctionnement.....	24
II.2.2. Loi de Béer-Lambert.....	25
II.2.3. Appareillage	28
II.2.4. Applications	28
II.2.5. Principe d'étalonnage avec spectrophotomètre.....	29
II.3. Voltammétrie.....	29
II.3.1. Voltammétrie cyclique.....	29
II.3.2. Voltamétrie par impulsion.....	34
II.3.3. Appareillage des méthodes électrochimiques.....	39

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III

Matériels et méthodes

III.1. Introduction.....	44
III.2. Etude spectroscopique par UV.....	45
III.2.1. Matériels et produits	47
III.2.2. Méthode expérimentale.....	50
III.3. Etude électrochimique par voltammétrie cyclique et par voltammétrie impulsionnelle différentielle	50
III.3.1. Instrumentation et produits	50
III.3.2. Méthode expérimentale.....	52

CHAPITRE IV

Résultats et discussion

IV.1. Introduction.....	55
IV.2. Détermination de la longueur d'onde maximale.....	55
IV.3. Optimisation des conditions de la dérivation chimique.....	55
IV.3.1. Influence des solvants.....	55
IV.3.2. Effet de la concentration du réactif (volumes de DHBS-S).....	57
IV.3.3. Influence du milieu alcalin (volumes de NaOH).....	59
IV.3.4. Influence du temps de réaction.....	60
IV.3.5. Influence de la température.....	61
IV.4. Validation de la méthode d'analyse.....	62
IV.4.1. Linéarité.....	62
IV.5. Application à l'analyse de produit pharmaceutique.....	64
IV.5. Conclusion.....	64
IV.B. Etude électrochimique.....	65
IV.6. Introduction.....	65
IV.7. Voltammétrie cyclique (CV).....	65
IV.7. Voltammétrie impulsionnel différentiel (DPV).....	67
IV.8. Application à l'analyse de produit pharmaceutique.....	68
IV.9. Conclusion et comparaison des méthodes.....	69
Conclusion Générale.....	71

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des Abréviations

IUPAC : International union of pure and applied chemistry

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

JORADP : Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

A.M.M : Autorisation de Mise sur le marché

DCI : Dénomination Commune Internationale

UV-Visible : UltraViolet-Visible.

IR : Infrarouge

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

λ_{\max} : Longueur d'onde maximale

Abs : Absorbance.

ϵ : Coefficient d'extinction.

C : Concentration.

l : Epaisseur de la cuve.

I_0 : Intensité de l'énergie d'irradiation arrivant sur l'échantillon (Lumière incidente).

I : Intensité de la radiation qui a traversé l'échantillon (Lumière transmise).

T : transmittance

CV : Voltammétrie Cyclique

DPV : Voltammétrie impulsionnelle différentielle

E : Potentiel électrique

I : Courant électrique

I_c : Courant capacitif

I_f : Courant faradique

E_i : Potentiel de balayage initial

E_f : Potentiel de balayage final

v : vitesse de balayage

I_{pa} : Courant anodique

I_{pc} : Courant cathodique

E_{pa} : Potentiel d'oxydation anodique

E_{pc} : Potentiel de réduction cathodique

$E_{p1/2}$: Potentiel à mi-hauteur du pic cathodique

ΔI_p : Courant net de pic

ΔE_p : Hauteur d'impulsion

t_p : Durée d'impulsion

φ : Fonction dont la valeur tend vers l'unité près du pic

n : nombre d'électrons transférés

A : Surface de l'électrode de travail

D : Coefficient de diffusion de l'espèce électroactive

F : Constante de Faraday

T : Température

R : Constante des gaz parfaits

ENH : Electrode normale à hydrogène

Red : Espèce Réducteur

Ox : Espèce Oxydant

DHBS-S : 2,5 DiHydroxyBenzèneSulfonique, sel monoSodique ($C_6H_5NaO_5S$)

CLA: Clarithromycine

NaOH : Hydroxyde de sodium

H_2O : l'eau

NaH_2PO_4 : Sodium dihydrogen phosphate

C_2H_5OH : Ethanol

NaCl : Chlorure de sodium

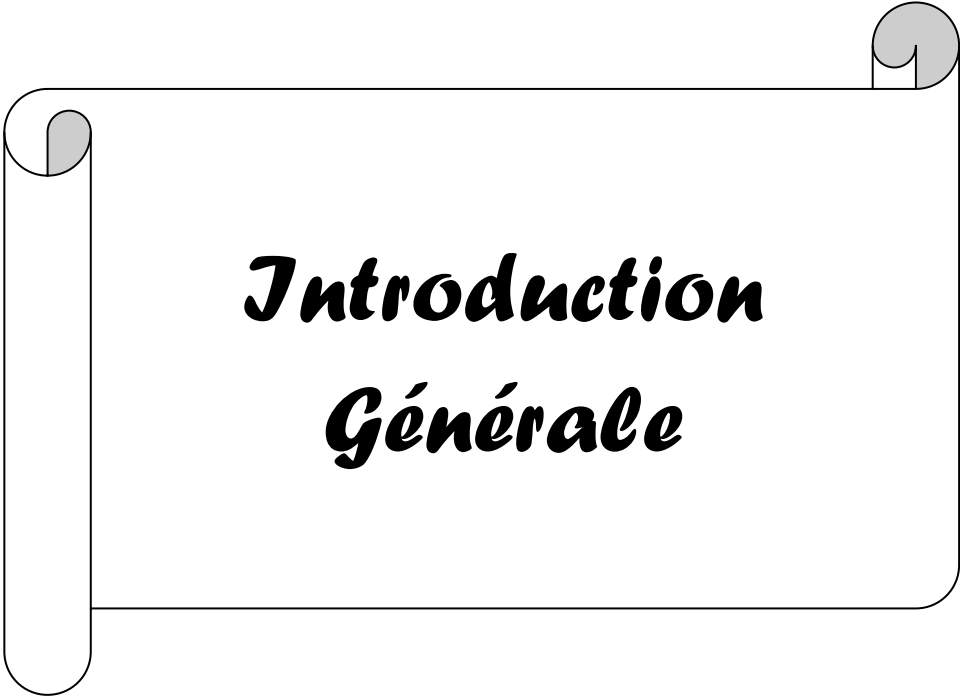
Liste des figures

Figure I.1 : Structure chimique du clarithromycine.	12
Figure I.2 : Schéma Mise en forme d'un médicament.....	16
Figure I.3 : Cycle de vie du médicament.....	20
Figure I.4 : Emballage du CLARITAL®, 500mg.....	21
Figure II.1 : spectre électromagnétique.....	24
Figure II.2 : Schéma présente le principe d'un spectrophotomètre à double faisceau.....	25
Figure II.3 : schéma d'une cellule d'absorption.....	26
Figure II.4 : schéma du constituant d'un spectrophotomètre UV-Visible.....	28
Figure II.5 : Signal d'excitation triangulaire potentiel en fonction de temps utilisé dans la voltammétrie cyclique.....	30
Figure II.6 : Allure d'un voltammogramme cyclique.....	31
Figure II.7 : Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système rapide.....	33
Figure II.8 : Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système lent.....	34
Figure II.9 : Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système quasi-rapide.....	34
Figure II.10 : Schéma montrant les décroissances des courants faradique et capacitif après une impulsion de potentiel.....	35
Figure II.11 : Schémas de potentiel appliqué et de voltampérogramme obtenu dans la Voltammétrie différentiel impulsionnel.....	36
Figure II.12 : Réponse typique d'un voltammogramme à impulsions différentielles.....	37
Figure II.13 : Schéma du dispositif expérimental pour les mesures à potentiel contrôlé.....	39
Figure III.1 : Spectrophotomètre Cary 60 UV-VIS Agilent.....	45
Figure III.2 : Clarithromycine pure (Étalon).....	46

Figure III.3 : Clarithromycine pharmaceutique (CLARITAL 500mg).....	46
Figure III.4 : DHBS-S (Dicynone 250mg/2ml).....	46
Figure III.5 : Solutions mères.....	47
Figure III.6 : Cellule électrochimique à trois électrodes.....	50
Figure III.7 : Equipement électrochimique utilisée dans notre travail.....	51
Figure III.8 : Phosphate monosodique de sodium	52
Figure III.9 : Chlorure de sodium.....	52
Figure III.10 : Structure chimique du clarithromycine.....	52
Figure IV.1 : Influence de la nature du solvant sur l'absorbance de PA-DHB-S.....	56
Figure IV.2 : Effet de volume du solvant acétone sur l'absorbance du complexe PA-DHBS-S.....	57
Figure IV.3 : Effet de la concentration du réactif (volumes DHBS-S) sur l'absorbance de complexe PA-DHB-S.	58
Figure. IV.4 : Influence du milieu alcalin (volumes de NaOH) sur l'absorbance du complexe PA- DHBS-S.....	.60
Figure. IV.5 : Influence du temps de réaction sur l'absorbance du complexe PA- DHB-S.....	61
Figure. IV.6 : Influence de la température sur l'absorbance du complexe PA-DHB-S.....	62
Figure IV.7 : Courbes d'étalonnage du détecteur en milieu aqueux (Clarithromycine).....	63

Liste des tableaux

Tableau I.1. Information général sur CLARITAL®	21
Tableau IV.1 : Influence de la nature du solvant sur l'absorbance de CLA- DHBS-S.....	55
Tableau IV.2 : Effet de volume du solvant acétone sur l'absorbance du complexe PA-DHB-S	57
Tableau IV.3 : Effet de la concentration du DHBS-S sur l'absorbance du complexe PA- DHBS-S.....	58
Tableau IV.4. Influence des volumes de NaOH sur l'absorbance du complexe PA-DHBS-S.	59
Tableau IV.5 : Influence du temps de réaction sur l'absorbance du complexe PA- DHBS-S	60
Tableau IV.6 : Influence de la température sur l'absorbance du complexe PA-DHB-S.....	61
Tableau IV.7 : Linéarité : changement de variables de PA-DHB-S en milieu aqueux.....	63
Tableau IV.8 : Résultats statistiques de l'étude de la linéarité de la clarithromycine par la méthode spectrophotométrie.	63
Tableau IV.9 : Résultats de dosage de clarithromycine (PA) en milieu pharmaceutique (CLARITAL® 500 mg, comprimé), par la méthode spectrophotométrique.....	64
Tableau IV.10 : Résultats de dosage de clarithromycine (PA) en milieu pharmaceutique (CLARITAL® 500 mg, comprimé), par la méthode voltamétrique de DPV.....	68



***Introduction
Générale***

Introduction Générale

Les infections ont été la principale cause de la plupart des maladies dans l'histoire de l'humanité. En particulier les infections bactériennes qui sont les plus fréquentes parmi celles-ci. La procédure la plus commune connue pour combattre l'infection bactérienne est par l'intermédiaire d'une thérapie antibiotique appliquée aux individus.

Le traitement de ces infections est basé sur l'utilisation des antibiotiques, qui doit répondre à des règles précises d'utilisation. Le choix de l'antibiotique clinique est habituellement reposé la sensibilité des germes responsables aux antibiotique. En revanche, les macrolides restent le premier choix dans le traitement des infections bactériennes. En général, la clarithromycine est le médicament de macrolide le plus utilisé.

L'analyse des médicaments revêt un grand intérêt du point de vue qualité et sécurité des traitements médicamenteux non seulement pour le patient mais aussi pour les personnes manipulant ces médicaments. L'utilisation des méthodes spectrales (UV) et des méthodes électrochimiques (CV/DPV) représentent un intérêt pour les chercheurs dans le domaine de l'analyse pharmaceutique.

Dans ce contexte, on se propose, dans ce mémoire de Master en Electrochimie-Corrosion, d'exploiter deux méthodes, méthode spectrophotométrique (UV) et méthode électrochimique (voltammétrie cyclique et la voltammétrie impulsionnelle différentielle), pour le dosage de la clarithromycine, dont l'objectif de notre travail est de contrôler la quantité d'un médicament commercialisé sous le nom générique de CLARITAL®, 500mg.

Le manuscrit que nous présentons se divise en quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré essentiellement aux généralités sur les médicaments et les antibiotiques.

Le deuxième chapitre contient des notions fondamentales sur les méthodes d'analyse utilisées; méthode spectrale (UV) et méthodes électrochimiques (CV /DPV).

Le troisième chapitre est une description des produits et des instruments utilisés. Il aborde ensuite les techniques expérimentales utilisées (spectrophotométrie UV et électrochimiques).

Le quatrième chapitre est consacré à la présentation des résultats expérimentaux et leur interprétation, ainsi que l'application de ces méthodes d'analyse pour la détermination quantitative de clarithromycine en milieu pharmaceutique (CLARITAL®, 500mg).

PREMIERE PARTIE

ETUDE THEORIQUE



CHAPITRE 1

Généralité sur les antibiotiques et les médicaments

I.1. Généralité sur les antibiotiques

I.1.1. Introduction

Dès sa naissance, l'homme est colonisé par de très nombreuses maladies infectieuses, qu'elles soient d'origine virale, bactérienne ou parasitaire, Ces maladies infectieuses ont eu un impact non seulement au niveau de la génétique des individus eux-mêmes, mais aussi sur des populations entières en entravant diverses activités humaines.

Depuis la fin du XIXe siècle, des efforts énormes ont été entrepris pour lutter contre les agents infectieux responsables de maladies humaines, avec un succès phénoménal, Pour faire face à ces infections, l'homme a recours à des substances appelées « antibiotiques », capables d'empêcher le développement et la progression de ces agents bactériennes. Ils ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections. Leur développement a révolutionné le traitement des maladies infectieuses [1].

I.1.2.L'histoire des antibiotiques

En 1889, Paul Vuillemin introduit le terme “antibiose” pour décrire le principe actif d'un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie. En 1897, Ernest Duchesne envisagea de faire une activité de moisissures à des fins thérapeutiques, mais son idée ne se mettra en place qu'au XXème siècle à la suite de la découverte de Sir Alexander Fleming. En 1929, il remarque qu'une de ses cultures de staphylocoques est en partie décimée.

Les bactéries ont été contaminées par la moisissure *Penicilliumnotatum*. Il constate aussi qu'elles ne se développent plus là où la moisissure prolifère. Il formule alors l'hypothèse que cette-dernière synthétise une substance, la pénicilline, qui bloque le développement de la bactérie. Il essaye alors d'extraire le principe actif des moisissures, mais toutes ses tentatives se soldent par des échecs. Dix ans plus tard, le biochimiste américain René Dubos isole le premier antibiotique : la gramicidine. Celle-ci, produite par des bactéries du sol, tue les pneumocoques. Pourtant, ce premier antibiotique reste extrêmement difficile à purifier et hautement toxique. En 1940, deux hommes cultivent une souche de *Penicillium* et parviennent à isoler et à Purifier un peu de pénicilline G. Après les premiers essais chez des souris infectées où le résultat a été concluant, on administre cette substance à un policier atteint d'une septicémie. L'état du malade s'améliore, mais le stock de pénicilline étant insuffisant, le traitement doit

être suspendu. Le policier décède donc, faute de quantité suffisante d'antibiotique. Pourtant, le premier antibiotique synthétisé a été créé par Gerhard Domagk, un biochimiste allemand. En 1932, il a découvert qu'un colorant, le sulfamidochrysoïdine avait un effet sur les streptocoques. Il l'a alors tout de suite breveté sous le nom de Prontosil. Il a d'ailleurs reçu le Prix Nobel pour sa découverte en 1939. En découvrant l'hémi synthèse, il a ouvert la voie à l'antibiothérapie moderne [2].

I.1.3. Définition des antibiotiques

Les antibiotiques (du grec anti : « contre », et bios : « la vie » [3]) sont des substances naturelles d'origine biologique élaborées par un organisme vivant, substances chimiques produites par synthèse ou substances semi synthétiques obtenues par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant une activité antibactérienne. Ils sont capables d'inhiber spécifiquement la croissance des bactéries (effet bactériostatique) ou de les détruire (effet bactéricide) sans nuire à l'organisme [4–6].

I.1.4. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon les critères suivants :

L'origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) ;

Mode d'action : plusieurs mécanismes d'action, on cite la paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques [7] ;

Spectre d'activité : chaque antibiotique est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher. On a ainsi des antibiotiques à spectre large, ou étroit [8] ;

Nature chimique et mécanismes d'action : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (bêta – lactamines, aminosides, tétracyclines ...)[9].

a) L'origine

- Les antibiotiques d'origine biologique : ils sont obtenus à partir d'autres micro-organismes.

- Les antibiotiques d'origine synthétique : ils sont obtenus par synthèse pure ou en association à des produits de synthèse ou à des produits biologiquement obtenus (semi synthétique) [10] ;

b) Spectre d'activité

Le spectre d'activité représente l'ensemble des espèces bactériennes sur les quelles cet antibiotique est actif ce qui permet de distinguer différentes famille d'antibiotiques :

- Les antibiotiques à spectre large : sont efficaces sur un grand nombre de types d'agents pathogènes. Ils sont utilisés lorsque la bactérie n'est pas identifiée et que la pathologie peut être due à différents types d'agents pathogènes.
- Les antibiotiques à spectre étroit : sont efficaces sur un nombre limité d'agents infectieux et permettant de cibler une pathologie en particulier [11].

c) Mode d'action

L'action des antibiotiques sur les germes peut prendre deux aspects : bactériostase et bactéricide. En réalité ces deux aspects sont complémentaires et ne sont que des degrés différents d'une seule et unique espèce bactérienne [12].

- Bactériostase : Elle est définie comme une diminution de la croissance bactérienne sans phase de destruction. Lorsqu'elle est maximale, le nombre de bactéries reste égal à l'inoculum [12].
- Bactéricide : Elle est définie comme l'activité d'un antibiotique qui entraîne la mort accélérée des bactéries. Elle est fonction de la concentration de l'antibiotique, du temps d'action, mais aussi du type d'antibiotique [13].

d) Nature chimique et mécanismes d'action

On distingue cinq grands mécanismes d'action. Les antibiotiques peuvent être classés en fonction de leurs structures de bases en familles. Ces dernières agissent sur les différents constituants de la bactérie, telle la paroi, la membrane cytoplasmique, la synthèse des protéines ou la synthèse des acides nucléiques [14].

➤ Les Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane :

Les classes les plus importantes dans ce type d'antibiotiques sont les Bêtalactamines, les Glycopeptides ainsi que la Fosfomycine. Ils agissent en interférant avec la biosynthèse du peptidoglycane.

➤ Les Antibiotiques actifs sur la membrane :

La colistine appartient au groupe des polypeptidiques, à spectre étroit qui agissent sur les phospholipides des membranes bactériennes.

➤ Les Antibiotiques actifs sur l'ADN :

Les inhibiteurs de la réplication de l'ADN (Quinolones. Nitrofuranes) et les inhibiteurs de la transcription de l'ADN (Rifamycines) constituant une cible d'action pour les antibiotiques dont certains comme les Quinolones, sont largement utilisés en clinique.

➤ Les Antibiotiques agissant par inhibition compétitive :

Ce sont des antibiotiques bactériostatiques, synergiques et inhibiteurs de la synthèse folique. Exemples : cotrimoxazole, sulfadiazine, sulfaméthizol, sulfadoxine-pyriméthamine [15].

➤ Les antibiotiques agissant sur la synthèse protéique :

La synthèse des protéines s'effectue dans le cytoplasme au niveau du ribosome bactérien 70S par transcription de l'ARNm. Les antibiotiques de cette catégorie les plus utilisés en médecine sont les Aminocyclitolides, Macrolides, Tétracyclines, Phénicolés et Acide Fusidique.

I.1.5. Les Antibiotiques d'usage courant en milieu hospitalier

- β-lactamines
- Fluoroquinolones
- Aminosides
- Glycopeptides
- Tétracyclines
- Macrolides et apparentés [16].

I.1.6. Les macrolides

a) Définition

Les macrolides sont des antibiotiques généralement bactériostatiques, utilisés en seconde intention par voie orale. Leur spectre est grossièrement celui de la pénicilline G. Leur tropisme intracellulaire très marqué leur accorde cependant des indications électives, en particulier sur les germes dont la pathogénie s'est révélée chez l'immunodéprimé. La plupart d'entre eux inhibent les cytochromes P450 et peuvent être ainsi à l'origine d'interactions médicamenteuses significatives. Ils sont utilisés dans le cas des infections pulmonaires atypiques (légionellose, infection à Chlamydia), de certaines infections à streptocoques, staphylocoques méfis, entérocoques. Cependant leur usage est délicat en raison de nombreux effets secondaires et interactions médicamenteuses [17].

b) Propriété physicochimiques

Tous les macrolides doués d'une activité antibactérienne significative présentent une structure chimique commune constituée d'un macrocycle lactonique (c.à.d. qu'il inclut une fonction lactone constituée par un O réunissant d'une part un C réduit [-CH₂-] et d'autre part un carbone Oxydé [C=O]) comprenant un ensemble de 14, 15 ou 16 atomes.

Dans tous les macrolides, à l'exception des kétolides, ce cycle est substitué par un sucre aminé d'une part et par un sucre neutre d'autre part.

La première grande famille que nous discuterons est celle constituée par les molécules comprenant 14 ou 15 atomes dans le cycle et dont le chef de file est l'érythromycine elle-même (appelée érythromycine A pour la distinguer d'autres composés proches isolés de la même source naturelle [érythromycines B et C]).

Outre le sucre aminé attaché en position 5 du macrocycle (est appelé désosamine), toutes ces molécules (sauf les kétolides), possèdent un sucre neutre, le cladinose, attaché en position 3.

L'érythromycine possède par ailleurs une fonction cétone en position 9 du macrocycle (carbone oxydé [C=O] placé entre deux carbones réduits [-CH₂-]) fonction dont nous discuterons la grande importance plus loin.

Les autres molécules de la famille, à l'exception de la clarithromycine, ne possèdent en effet plus cette fonction. La deuxième famille est celle constituée des molécules à 16 atomes dans le cycle macrolactonique. Ces molécules ne possèdent pas de fonction cétone dans leur cycle

et le sucre correspondant au cladinose n'est pas attaché directement au macrocycle mais est lié à la désosamine. Cette famille, dont le chef de file est la spiramycine, comprend plusieurs molécules très utilisées de par le monde, telles la josamycine (ou leucomycine A3) (largement commercialisée en France) et la rokitamycine (commercialisée au Japon). La miocamycine fait partie de cette famille et en est un dérivé semi synthétique obtenu à partir de la midécamycine, dont la structure, proche de la josamycine [18].

Ce sont des bases faibles (pKa de 8-9) présentées sous forme de poudre amère très peu soluble dans l'eau. Ces molécules présentent donc la possibilité de former des sels hydrosolubles. Du fait de la présence de fonctions alcools sur la génine et des oses possibilité de former des esters.

A pH acide (c.à.d. milieu gastrique) on observe une instabilité des macrocycles naturels à 14 chaînons (clarithromycine) mais une stabilité des macrocycles naturels à 16 chaînons et surtout des macrolides hémi synthétiques à 14 ou 15 chaînons [19].

c) Structure et classification

Ce sont des hétérosides lipophiles de poids moléculaire élevé qui sont constitués d'une génine qui est un macrocycle lactonique oxygéné comportant divers substituants (fonction alcool, cétone, méthyle, éthyle) et d'une partie osidique consistée au minimum de 2 oses déshydroxylés (des déoxyoses) : au moins un ose aminé (D-désosamine) et au moins un ose neutre (de type cladinose) ou bien un disaccharide. Au moins un des oses et toujours diméthylaminé, ce qui confère à ces molécules un caractère basique faible.

Classiquement on distingue trois groupes suivant le nombre de chaînons de la génine lactonique :

- Macrolides dont la génine possède 14 chaînons : substituée en 4 par un cladinose (dérivé de L-mycarose) et en 6 par D-désosamine : c'est le cas de l'érythromycine, la roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine, télithromycine ;
- Macrolides dont la génine possède 16 chaînons : substituée en 6 par un disaccharide et une double liaison en 11 et 13 : c'est le cas de la josamycine, midécamycine, spiramycine
- Macrolides dont la génine possède 15 chaînons : correspond au groupe des azalides avec un représentant ; azithromycine qui est un macrolide hémi synthétique dérivé de l'érythromycine [20].

d) Spectre d'action :

Les macrolides possèdent un spectre relativement étroit et proche de celui des pénicillines. Ils peuvent donc être une bonne alternative lorsqu'il y a des allergies aux pénicillines. Les espèces sensibles sont :

- Les cocci gram + : Staphylocoques (sauf *Staphylococcus aureus* méthicillinerésistant ; les staphylocoques ont une résistance acquise à l'Erythromycine de 60 à 80%), streptocoques surtout *Streptococcus pneumoniae* : 40% sont devenus en France résistants aux macrolides.
- Les cocci gram - : *Neisseria meningitidis* et *N. meningitidis* ;
- Bacilles gram + aérobies telles que : *Listeria monocytogenes* mais de plus en plus de résistances acquises ;
- Quelques bacilles gram - : *Pasteurella*, *Bordetella*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori* (responsables d'ulcères gastro-duodénaux).
- Autres : certaines mycobactéries (*Mycobacterium avium*), espèces atypiques responsables d'infections respiratoires et génitales : *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum* (bactérie opportuniste responsable d'urétrites, pyélonéphrites), *Treponema pallidum* (responsable de la syphilis), Rickettsies
- Parasites : *Toxoplasma gondii* : protozoaire responsable de la toxoplasmose et *Pneumocystis carinii* (champignon responsable de la pneumocystose) [21].

I.1.7. Clarithromycine

La clarithromycine est un antibiotique macrolide à large spectre ayant une activité antibactérienne. La clarithromycine diffuse à travers la membrane cellulaire bactérienne et se lie de manière réversible à la sous-unité 50S du ribosome bactérien.

La clarithromycine est un antibiotique antibactérien qui appartient à la famille des macrolides. Son mode d'action permet de détruire des germes en cause dans certaines inflammations et infections, telles que des angines, des otites, des sinusites, des bronchites ou encore des infections cutanées.

La clarithromycine inhibe la synthèse protéique en se liant à la sous-unité ribosomale 50S à l'intérieur du microorganisme. Elle est habituellement bactériostatique mais peut être bactéricide dépendant de la sensibilité et du nombre de microorganismes et de la concentration du médicament. Son spectre d'activité est similaire à celui de la pénicilline G.

clarithromycine base poudre Matière première, est un antibiotique à large spectre produit par une souche de *Streptomyces erythreus*, administré par voie orale, parentérale et topique à la peau ou à l'œil, et efficace contre une grande variété d'organismes, y compris les bactéries gram-négatives et gram-positives [22].

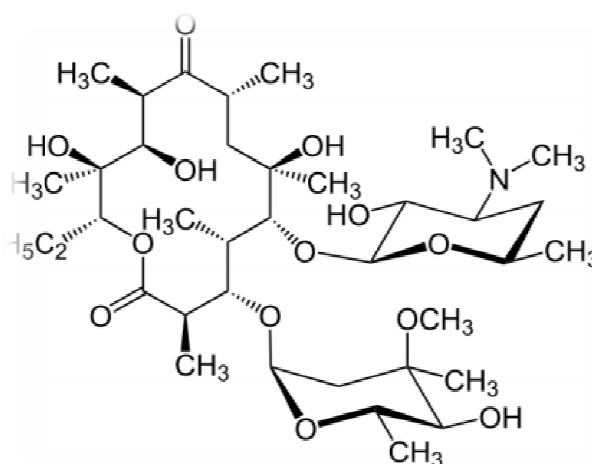


Figure I.1 : Structure chimique du clarithromycine [22].

Nom de l'IUPAC

(3R, 4S, 5S, 6R, 7R, 9R, 11R, 12R, 13S, 14R)-4-((2,6-Didéoxy-3-C-méthyl-3-O-méthyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)-oxy)-14-éthyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexaméthyl-6-((3,4,6-trideoxy-3 (diméthylamino)-β-D-xylo-hexopyranosyl)oxy)oxacyclotétradécane-2,10-dione [16].

a) Propriétés physicochimiques

La clarithromycine est instable en milieu acide ($\text{pH} < 6.9$) par formation d'un hémiacétal par addition nucléophile de l'hydroxyle en 7 sur la cétone en 10 qui par déshydratation aboutit à la formation de l'anhydroerythromycine. Cette dernière subit une addition nucléophile de l'hydroxyle en 13 sur la double liaison en 10 pour former un dérivé de type spirokétal.

Son amertume, son instabilité dans l'eau et en milieu acide ont conduit à préparer divers dérivés :

- Des esters obtenus par substitution sélective de l'OH de l'ose : désosamine tels que propionate, succinate d'éthyle.
- Formation de sels de type stéarate ou lactobionate.

Ces pro-drogues peu solubles dans l'eau et vont être plus stables en milieu acide. En effet ils sont relargués et ainsi absorbés plus au niveau de la partie intestinale [21].

b) Utilisation

La clarithromycine est efficace contre une grande variété d'infections bactériennes. Il peut également être utilisé pour la prévention de certaines infections bactériennes. Connue comme un antibiotique macrolide, poudre d'érythromycine base de matières premières, fonctionne en arrêtant la croissance des bactéries. Cela ne marchera pas pour traiter les infections virales. L'utilisation inutile ou la mauvaise utilisation de clarithromycine peut entraîner une diminution de son efficacité [23].

c) Effets indésirables

La clarithromycine peut occasionnellement provoquer des troubles gastro-intestinaux : vidange gastrique et stimulation de la motilité intestinale (diarrhée) [24].

I.2. Généralités sur les médicaments et présentation du CLARITAL®

I.2.1. Introduction

Depuis sa création l'être humain cherche instinctivement à survivre à tout ce qui le menace. C'est ainsi, qu'il poursuit toujours ses recherches dans tous les domaines pour se préserver contre les aléas de la vie. La maladie forme ainsi l'une des plus grandes menaces à la survie de l'être humain ; c'est pour cela que l'homme a toujours cherché à s'en guérir. Ainsi les sociétés, au fil de l'histoire de l'humanité ce sont intéressées au développement de l'art de guérir dont le noyau dur est le médicament. Ce dernier constitue un symbole de la médecine, « le médiateur indispensable du pouvoir médical, le témoin de son efficacité et de sa force, la preuve palpable que la médecine peut apporter une réponse aux souffrances vécues par l'individu. » [25].

I.2.2. Définition

Le médicament est défini par l'Organisation Mondiale de la Santé « OMS » par: «On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés

curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique »[26].

I.2.3.Origine

- **Origine végétale :**

La phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public soucieux de traitement naturel. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent.

- **Origine animale :**

Leur emploi est aussi ancien que celui des plantes, on utilise actuellement en thérapeutique des organes, glandes ou tissus humains ou animaux (sang et plasma humain) et des principes actifs obtenus par extraction (des hormones et des enzymes).

- **Origine minérale :**

Certains minéraux qu'ils soient des produits naturels et purifiés ou obtenus par des réactions de chimie minérale sont encore employés en qualité de principe actif ou d'excipients de médicaments (eau, talc, bicarbonate de sodium...) [27].

- **Origine microbiologique :**

C'est le cas des vaccins obtenus à partir des bactéries ou de virus atténués ou tués, et les antibiotiques découverts fondamentalement dans le traitement des maladies infectieuses.

- **Origine synthétique :**

La synthèse de molécules complexes nécessite souvent d'importantes études de recherche et de mise au point par étapes successives pour aboutir à la structure désirée. Il est possible dans certains cas de partir de molécules déjà connues, d'origine naturelle ou synthétique, les transformer pour aboutir à de nouvelles molécules (hémi synthèse).

- **Origine biotechnologique :**

Elle s'agit de méthodes de synthèse très élaborées faisant intervenir pour l'essentiel des techniques de génie génétique [28].

I.2.4. Composition et conditionnement des médicaments

a) Composition

Le médicament est composé de deux parties : le contenu (principe actif et excipients) et le contenant (conditionnement).

• Principe actif (substance active) :

C'est une substance susceptible de prévenir ou de faire cesser un trouble déterminé dans l'organisme. En d'autres termes, c'est l'élément possédant les propriétés curatives et/ou préventives du médicament [29]. Tout composant d'un médicament qui est destiné à exercer une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le diagnostic, le traitement ou la prévention d'une maladie, ou à agir sur la structure ou les fonctions de l'organisme humain ou animal par des moyens pharmacologiques. Un médicament peut contenir plusieurs principes actifs Terme équivalent : substance active [30].

• Excipient ou adjuvant

L'excipient est un mélange de substances dites auxiliaires, inactives par elles-mêmes sur la maladie, qui facilitent la préparation et l'emploi du médicament. Celui-ci comporte en plus le conditionnement qui en facilite la délivrance, l'utilisation et en assure la conservation. Est le support (ou le véhicule ou adjuvant) du principe actif. Il a un rôle non thérapeutique et inactif:

- Facilite l'administration, la conservation et la mise en forme ;
- Permet d'exercer l'action thérapeutique dans les meilleures conditions et d'accélérer ou ralentir la résorption d'un médicament
- Masque le goût et protège contre l'acidité gastrique.

L'une des qualités principales recherchées pour un excipient est son inertie vis-à-vis des principes actifs, des matériaux de conditionnement et de l'organisme. Néanmoins ; un adjuvant peut modifier d'une façon importante l'activité d'un principe actif d'où ; très souvent la nécessité de refaire après un changement d'excipient des essais cliniques, des études biodisponibilité, stabilité...etc.[27].

b) Conditionnement

Il existe deux types de conditionnement :

- **Conditionnement primaire**

Indispensable pour le médicament, ayant un rôle de protection (isole et conserve le médicament) et un rôle fonctionnel (facilite l'utilisation du médicament par le malade).

- **Conditionnement secondaire**

Permet la manipulation, le transport de médicament ainsi que son identification et information pour le malade (assure la sécurité) [31].

I.2.5. La mise en forme d'un médicament

Un médicament se compose d'un ou de plusieurs principe actifs et d'excipients. L'ensemble étant contenu dans un récipient.

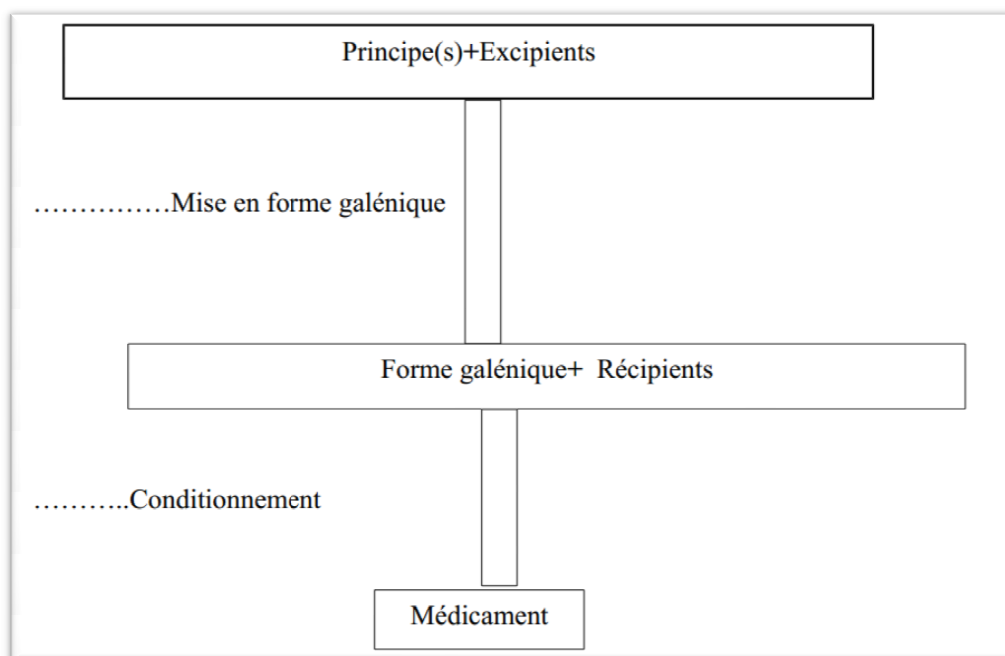


Figure I.2 : Schéma Mise en forme d'un médicament [31].

- Le principe actif d'un médicament est une substance d'origine chimique ou naturelle Caractérisée par un mécanisme d'action curatif ou préventif précis dans l'organisme.
- L'excipient est une Substance associée au principe actif d'un médicament et dont la fonction est de faciliter l'administration, la conservation et le transport de ce principe actif jusqu'à son site d'absorption (par opposition à principe actif) [32].
- Le récipient est destiné au conditionnement, le protégeant ainsi de l'environnement Extérieur.

- L'ensemble est regroupé dans un emballage accompagné d'une notice explicative [32].
- Le conditionnement c'est l'opération complémentaire de la mise en forme. Il consiste à enfermer la préparation dans une enveloppe, de forme et de matière très variées, et à donner ainsi au médicament son aspect définitif, facilement utilisable par le malade. C'est ce qu'on a appelé le conditionnement primaire. Cette forme ainsi conditionnée est protégée par un emballage (conditionnement secondaire), qui est généralement constitué par un carton [33]

La forme galénique d'un médicament est l'aspect (comprimé, gélule, suppositoire, ...) sous lequel est présenté celui-ci mais aussi le type d'absorption du médicament : libération prolongée, gastro résistant, etc. Plus généralement, le galénique est l'étude des formes d'administration des médicaments [34].

I.2.6. Différents types de médicaments

• Médicaments princeps :

Un médicament princeps ou médicament d'origine est un médicament mis au point par un laboratoire pharmaceutique qui en garde l'exclusivité jusqu'à expiration du brevet.

• Médicaments génériques :

Le code français de la santé publique définit le médicament générique comme suit :

« On entend par spécialité générique d'une autre spécialité, une spécialité qui a la même composition qualitative et quantitative en principe actif, la même forme pharmaceutique et dont la bioéquivalence avec l'autre spécialité a été démontré par des études appropriées de biodisponibilité. » [35].

En Algérie le décret exécutif n°92-284(JORADP) de 1992, définit dans son article 4 le médicament générique comme toute spécialité dont la composition est essentiellement similaire à un produit pharmaceutique original, lorsqu'il a la même composition qualitative et quantitative en principe (s) actif (s), qu'il est présenté sous la même forme pharmaceutique et que, lorsque nécessaire, la bioéquivalence avec le premier produit a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité.

I.2.7. Développement du médicament

Avant d'être considéré « Médicament » et obtenir l'Autorisation de Mise sur le marché (A.M.M), un produit subit deux grandes étapes d'études, précliniques et cliniques.

a) Les étapes précliniques

Ensemble des étapes avant la première administration à l'homme.

➤ **Découverte d'un médicament**

La découverte d'une nouvelle molécule active se fait soit par : Hasard, Screening systématique de molécules, Synthèse chimique. Recherche dirigée à partir d'un médicament, ou d'une substance naturelle.

➤ **Études pharmacologiques**

Permettent de connaître les caractéristiques de l'effet principal et des effets indésirables éventuels et de positionner le produit en comparaison à ceux déjà existants.

➤ **Études pharmacocinétiques**

Ces études permettent de préciser les modalités de résorption, de distribution, de métabolisation et d'élimination du produit en déterminant les différents paramètres pharmacocinétiques.

➤ **Études toxicologiques**

Permettent de déterminer la Dose Létale 50 (DL50) dose capable de tuer 50% des animaux d'expérimentation [36].

b) Les étapes cliniques

C'est l'ensemble des étapes d'études du médicament chez l'Homme. Les essais cliniques comportent quatre phases :

- trois phases avant la commercialisation notés phase I, phase II et phase III
- une phase après la commercialisation noté phase IV.

• Phase I :

Première administration à l'Homme, se pratique chez le volontaire sain (Nombre de Sujets : 100 à 200 personnes). Son but est de :

- Déterminer la dose minimale active ;
- Déterminer les paramètres pharmacocinétiques ;
- Déterminer l'acceptabilité du futur médicament. La durée des essais est de 18 mois.

La collection d'informations sur le premier contact de l'Homme avec la substance étudiée. Elle n'a pas pour but d'affirmer l'effet thérapeutique du produit.

● **Phase II :**

Se pratique chez le patient souffrant de la Maladie Cible (Nombre de sujets : 100 à 500 Patients). Son but est de :

- Obtenir l'opinion des médecins sur l'activité thérapeutique du produit ;
- Sonder les indications possibles, les effets indésirables, la durée de l'effet et la posologie optimale ;
- Poser les hypothèses de travail pour la phase suivante. La Durée des essais est de 12-24 mois. Méthode ouverte, sans comparaison avec un placebo ou un médicament de référence [35].

● **Phase III :**

Il s'agit d'une grande phase des essais cliniques. Qui comprend une méthodologie scientifique rigoureuse (randomisée, en aveugle (simple ou double), contre un placebo ou une substance de référence). Nombre de sujets : 1000 à 3000 Patients .Son but est de :

- Déterminer le profil thérapeutique et le devenir pharmacocinétique du produit.

La durée des essais est de quelques années. Cette phase décisive de l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM).

● **Phase IV :**

C'est une phase qui commence après commercialisation et qui concerne les études à très grandes échelles. Son but est de :

- Affiner les indications thérapeutiques ;
- Établir l'innocuité du médicament ;
- Cibler des populations particulières ;

-Vérifier l'absence d'interactions médicamenteuses [36].

I.2.8.Cycle de vie du médicament

De la recherche jusqu'au consommateur, la vie d'un médicament suit un cycle précis. Ce dernier peut être divisé en trois principales étapes :

- La première étape « préparation » concerne la recherche et le développement.
- La deuxième étape « autorisation » englobe les procédures administratives pour la commercialisation du médicament.
- La dernière étape « utilisation » est la commercialisation.

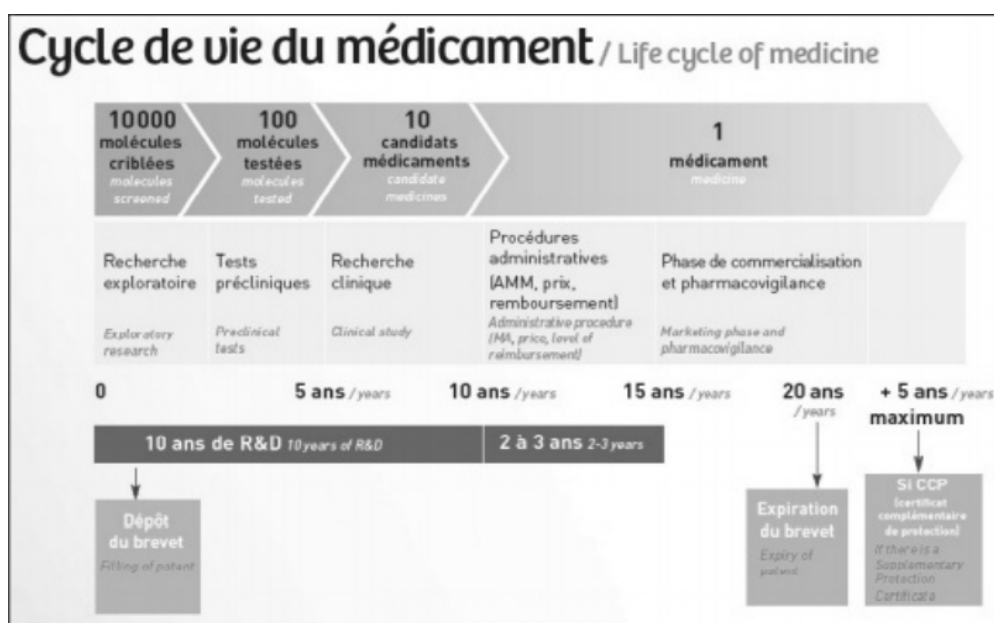


Figure I.3 : Cycle de vie du médicament.

I.2.9.Dénomination des médicaments

Un médicament a un nom chimique, une dénomination internationale commune (DCI) et un nom commercial [37].

• Nom chimique:

Le nom chimique ou le nom scientifique correspond à la formule chimique de la substance qui compose le médicament.

• Dénomination Commune Internationale (DCI) :

La Dénomination Commune Internationale DCI ou le nom générique est attribué par l'OMS. Cette dénomination est composée à partir de segments-clés qui renseignent notamment sur l'origine et le mode d'action pharmacologique du produit.

• **Nom commercial :**

Le nom commercial qualifié aussi de marque ou de pharmaceutique est choisi par le producteur du médicament. Cette appellation est généralement courte et facile à mémoriser, mais à la différence de la DCI, il pourra différer d'un pays à l'autre.

I.2.10. Généralité sur le médicament CLARITAL®, 500mg

Ce médicament (Figure I.3) est indiqué dans le traitement et la prévention de certaines infections bactériennes à germes sensibles [39]. Le tableau suivant présente quelques informations sur le médicament CLARITAL® (500mg).

Tableau I.1. Information général sur CLARITAL® [40].

Nom commercial	CLARITAL®
Code DCI	13E215
Dosage	500MG
Forme	COMP.PELLI
DCI	Clarithromycine
Laboratoire	SOPHAL
Classe thérapeutique	Infectiologie
Classe pharmacologique	MACROLIDES
Conditionnement	B/14
Type	Générique
Pays	Algérie



Figure I.4: Emballage du CLARITAL®, 500mg [40].



CHAPITRE 11

***Aperçu sur les méthodes
physico-chimiques d'analyse***

II.1. Introduction

La spectroscopie ou spectrométrie est le domaine qui étudie la mesure de l'énergie transportée par les rayonnements électromagnétiques. C'est un ensemble de méthodes analytiques qui consistent à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. La spectrophotométrie est utilisée dans divers domaines : chimie, pharmacie, environnement, agroalimentaire, biologie etc.

La technique de spectrométrie d'absorption UV-visible est la plus utilisée dans les laboratoires d'analyses biologiques.

L'électrochimie se présente notamment comme une méthode d'analyse intéressante qui relie des mesures électriques à des paramètres chimiques. L'exploitation analytique des lois de cinétique électrochimique a trouvé écho dans un grand nombre de domaines, comme l'environnement,

L'agroalimentaire, l'industrie et l'analyse biomédicale [41-43]. En effet, l'analyse en laboratoire est souvent coûteuse et nécessite beaucoup de temps (prélèvement, transport et stockage des échantillons à analyser, coût du prétraitement et de l'équipement, personnel qualifié). Ces méthodes électrochimiques présentent de nombreux avantages comparées aux méthodes spectrométriques, l'équipement étant moins coûteux et les mesures pouvant être réalisées directement sur site [44]. De plus, les techniques spectroscopiques analysent la quantité totale en métal tandis que les techniques voltampérométriques permettent d'analyser les métaux sous différents nombres d'oxydation. Enfin, les techniques spectroscopiques ne permettent l'analyse que des métaux, des sulfures et des composés du phosphore en solution tandis que les techniques voltampérométriques permettent d'analyser aussi des anions, des composés organiques et en général tout composé électroactif.

II.2. Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique fondée sur l'étude du changement de l'intensité de la lumière traversant une solution colorée, dans un domaine d'application comprise entre 200 et 800 nm, en effet pour pouvoir déterminer les concentrations des substances absorbantes [45].

Le résultat correspond à des spectres d'émission ou d'absorption [46], qui ressemble à des courbes de variation d'absorption en fonction de la longueur d'ondes est obtenu par un

spectrophotomètre à une lumière sensiblement monochromatique, où le chromophore est le site dont la structure de l'élément à étudier possède l'aptitude à absorber les photons UV ou visible. Il est caractérisé par la longueur d'onde la plus absorbée (λ_{\max}), et l'aptitude la plus importante à absorber les photons à cette longueur d'onde (λ_{\max}) [47].

La spectrophotométrie UV/Visible repose sur l'interaction du rayonnement électromagnétique et la matière dans le domaine s'étendant du proche UV au très proche IR soit entre 180 et 1100 nm. Cette partie du spectre est relativement pauvre en informations sur la structure des composés moléculaires. La méthode s'applique non seulement aux composés qui présentent une absorption mais également aux composés dont un dérivé obtenu par une réaction chimique présente une telle absorption.

Le domaine spectral concerné est subdivisé en trois plages appelées proche UV, visible et très proche IR (185 -400 ; 400 -800 ; 800 -1100 nm ; (Figure II.1)). La plupart des spectrophotomètres commerciaux recouvrent la gamme allant de 190 à 950 nm.

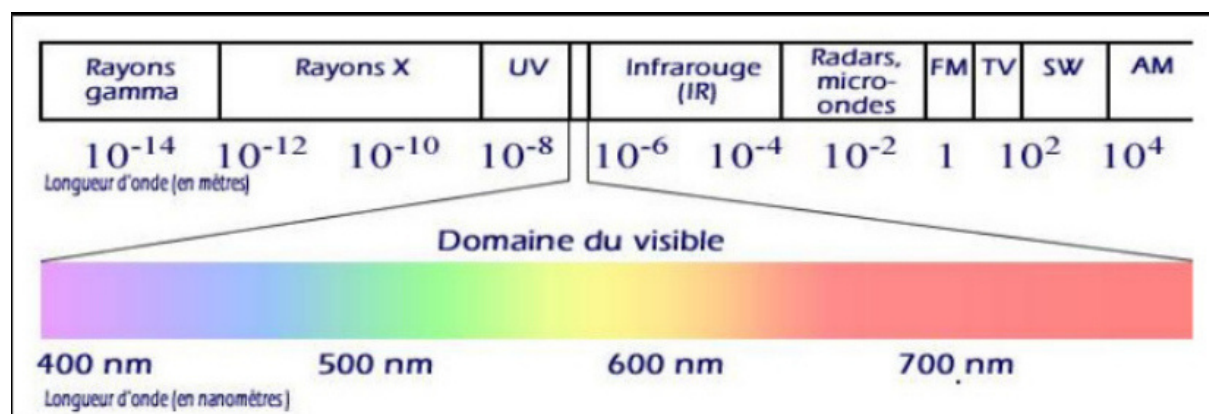


Figure II.1 : Spectre électromagnétique.

II.2.1. Principe de fonctionnement

L'UV-visible s'applique à des produits contenant un groupement chromophore, surtout les molécules contenant au moins un noyau aromatique ou un radical, aussi sur les composés hétérocycliques. Lorsqu'un faisceau de radiation monochromatique parallèle traverse sous incidence normale un milieu absorbant homogène et constitué d'une solution de N composés dissous ne réagissant pas les uns sur les autres, l'absorbance de l'ensemble est égale à la somme des absorbances spécifiques. Lors de ce processus, la molécule passe de l'état fondamentale à l'état excité.

La spectrophotométrie UV-visible s'occupe des électrons de valence, les transitions possibles seront les électrons des orbitales moléculaires liantes ou non liantes et orbitales moléculaires anti-

liante.

Le spectrophotomètre est un appareil permettant de mesurer l'absorbance d'une solution, pour différentes longueurs d'ondes. Pour cela, il fait passer un rayon d'une longueur d'onde choisie à travers une cuve contenant la solution à étudier (Figure II.2). Les molécules de la solution absorbent plus ou moins le rayon lumineux, on définit alors l'absorbance pour cette longueur d'onde [48].

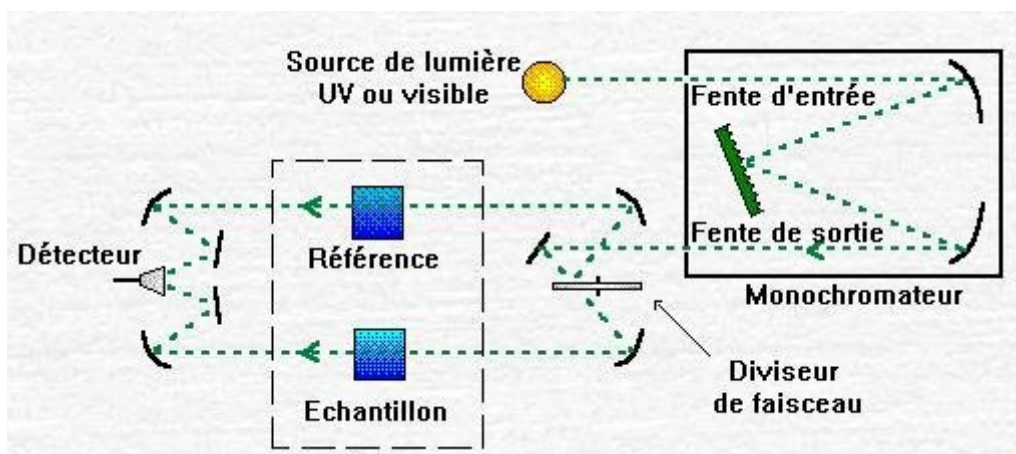


Figure II.2 : Schéma présente le principe d'un spectrophotomètre à double faisceau.

II.2.2. Loi de B er-Lambert

De nouvelles techniques bas es sur la spectroscopie d'absorption ont commenc e à se développer depuis une dizaine d'année, et subissent aujourd'hui un regain d'intérêt grâce aux riches possibilités qu'elles offrent. Elles sont bas es sur une loi toute simple appel e loi de B er-Lambert qui lie linéairement le taux d'absorption à la concentration de l'espèce absorbante. Cependant, cette linéarité est conditionn e en pratique par la résolution du spectromètre ainsi que par le produit, de la concentration, et par la longueur d'absorption. L'écart par rapport à certaines valeurs de ces deux paramètres conduit à la déviation de la loi d'absorption par rapport à sa linéarité. Si un faisceau de photon d'intensité initiale I_0 traverse une cuve de longueur L (généralement 1 cm) contenant une solution de concentration C (mol.L⁻¹).

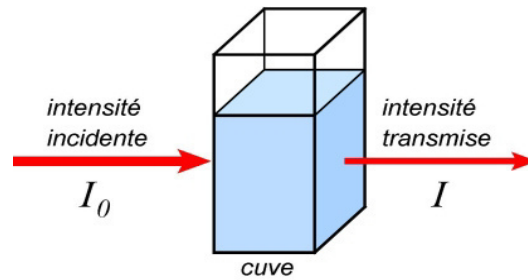


Figure II. 3 : Schéma d'une cellule d'absorption.

L'intensité **I** une fois la cuve traversée aura comme relation:

$$I = I_0 e^{(-\epsilon LC)}$$

ϵ : Le coefficient molaire d'absorption.

L'intensité lumineuse n'est pas toujours l'information la plus intéressante à traiter, c'est pourquoi on définit la transmittance (**T**), souvent exprimée en pourcentage est définie comme suite :

$$T = \frac{I}{I_0}$$

C'est la grandeur que l'on retrouve en ordonnée des spectres.

On rencontre aussi l'absorbance, unité utilisée en spectrophotométrie UV-visible, Définie par :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \log T$$

L'absorbance peut donc s'écrire sous la forme :

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

Où

A : l'extinction, l'absorbance ou densité optique,

L : épaisseur de la cuve toujours Exprimé en cm,

ϵ : Le coefficient d'extinction molaire ou d'absorption molaire,

C'est une grandeur intrinsèque d'un composé dans des conditions données, dépend de la nature du corps absorbant, de la longueur d'onde, de la température et indépendant du Solvant il s'exprime en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

C : la concentration de l'analyse exprimée en $mol \cdot L^{-1}$.

- Si ϵ et L sont donnés, l'absorbance est en principe proportionnelle à la concentration. Deux facteurs peuvent modifier cette proportionnalité : la concentration et la sensibilité du détecteur.
- Si la solution est trop concentrée, il peut y avoir des interactions soluté-solvant, soluté-soluté,
- La loi n'est vérifiée que dans un domaine limité de l'absorbance, entre 0 et 2.
- utilisée pour de nombreux dosages d'espèces chimiques colorés.
- Pour des composés incolores, il est parfois possible de préparer des complexes colorés.

A une longueur d'onde donnée, et en faisant la mesure avec des cuves de même épaisseur (L), On aura une proportionnalité entre l'absorbance mesurée et la concentration du corps absorbant.

La loi de Beer-Lambert n'est vérifiée rigoureusement que sous les conditions suivantes :

- La lumière utilisée doit être monochromatique.
- La concentration de la substance absorbante ne doit pas être trop élevée (risque d'avoir Réflexion de lumière).
- Solutions sans troubles et non fluorescentes.
- La dilution ne déplace pas l'équilibre de la réaction (un échantillon coloré est un Complexe et sa réaction est réversible).
- L'analyse est déterminée par comparaison à une courbe d'étalonnage déterminée Expérimentalement.

On choisira toujours la longueur d'onde qui correspond à une absorption maximale. Tous les Corps en solution absorbent la lumière, aussi bien que le verre des cuves. Il est donc nécessaire de déterminer cette absorption parasite par un essai à blanc dans lequel on mesure

l'absorption d'une solution contenant tous les constituants sauf le corps à analyser. Les Conditions d'analyse doivent être les mêmes (température, pH, manipulateur,...) [49].

II.2.3. Appareillage

Le spectrophotomètre UV-visible est constitué des éléments suivants :

- Source de lumière monochromatique : **Visible** : Lampe à incandescence à Tungstène et iode. **UV** : Lampe à arc à Deutérium ou à Xénon ou mercure.
- Monochromateur : Il permet de sélectionner la longueur d'onde de la lumière qui traversera la solution à doser.
- Cuve : Une cuve transparente dans laquelle on place la solution à étudier. Suivant la qualité et la quantité d'échantillon, il existe différentes cuves, généralement en plastique ou en verre (spectre visible) ou en quartz (UV).
- Détecteur : Photomultiplicateur ou photopiles (Permet la transformation de l'énergie lumineuse en énergie électrique, le courant produit est très faible et sera amplifié ultérieurement)

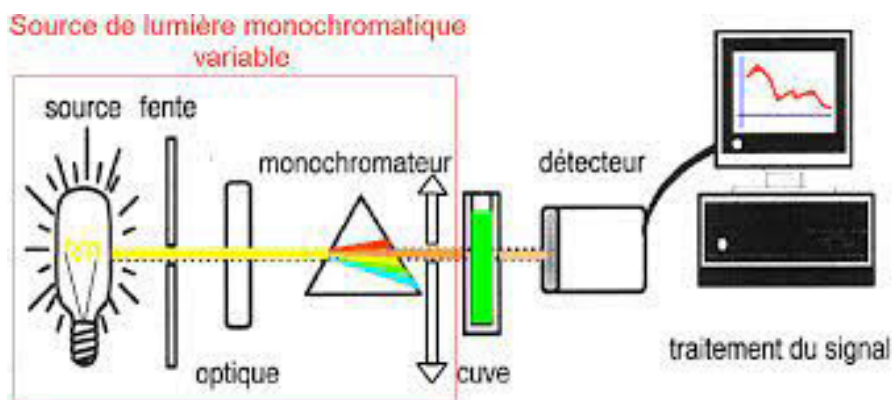


Figure II.4 : Schéma du constituant d'un spectrophotomètre UV-Visible.

II.2.4. Applications

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode facile à mettre en œuvre. Elle est utilisée aussi bien pour l'analyse qualitative que quantitative [50].

- ❖ **Analyse qualitative (identification des substances) :**

La méthode détecte les groupements fonctionnels chromophores mais ne permet pas l'identification certaine des molécules. Elle doit toujours être complétée par d'autres Méthodes spectrales (IR, RMN, spectrométrie de masse) ou chimiques.

❖ **Analyse quantitative :**

Les mesures en UV/Visible reposent sur la loi de B er et Lambert ; qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

II.2.5. Principe d'étalonnage avec spectrophotomètre

La méthode de mesure consiste à mesurer directement le rapport entre le flux incident et le Flux transmis à travers l'éprouvette. Pour ces mesures, le spectrophotomètre fonctionne en Mode « double faisceau ». La transmission du filtre est obtenue en faisant le rapport entre le Signal « voie échantillon » et le signal « voie référence ». Ce mode de fonctionnement permet de corriger les variations d'émission de la source et les variations de transmission de l'atmosphère sur le trajet optique du faisceau [51].

II.3. Voltammétrie

La voltammétrie est une méthode d'électroanalyse bas e sur la mesure du flux de courant résultant de réduction ou d'oxydation des espèces présentes en solution [52]. Les différentes techniques voltammétriques découlent des innovations portant sur la façon dont le signal $E=f(t)$ est imposé et le signal $I = f(E)$ est mesuré qui ont été d velopp es dans le but de maximiser le rapport I_f/I_c afin d'augmenter la sensibilité. I_f est le courant faradique associé aux processus d'oxydoréduction, I_c est le courant capacitif lié à l'existence de la double couche électrique. Soit $I = I_f + I_c$ (contribution faradique et capacitive à l'interface électrode/solution).

La technique voltammétrique la plus fréquemment utilis e actuellement est la voltammétrie cyclique.

II.3.1. Voltammétrie cyclique

La voltammétrie cyclique est définie comme une technique électrochimique stationnaire qui est couramment utilis e pour contrôler les processus qui se produisent sur la surface de l'électrode de travail. Cette technique est souvent employ e en électrochimie grâce à sa capacité de pouvoir à la fois élaborer un matériau et ensuite le caractériser

Elle est capable de fournir des informations très variables sur le processus de l'interface électrode/solution ainsi que d'étudier le comportement d'une espèce redox en solution. L'utilisation de la voltammétrie cyclique permet d'étroite la fourchette du potentiel où apparaissent les pics voltammétriques. Cette gamme est caractéristique des espèces de la réaction, mais ils sont parfois conditionné par le milieu électrolytique utilisé et par la structure de la surface de l'électrode [53-54].

a) Principe de la méthode

La voltampérométrie cyclique consiste à appliquer un balayage de potentiel d' E_i à E_f , suivi d'un balayage retour vers le potentiel initial E_i à vitesse v constante afin de décrire un cycle de potentiel (E_f est le potentiel d'inversion). C'est un balayage triangulaire du potentiel en fonction du temps qui est caractérisée par la vitesse de balayage $v = dE/dt$ (figure II.5).

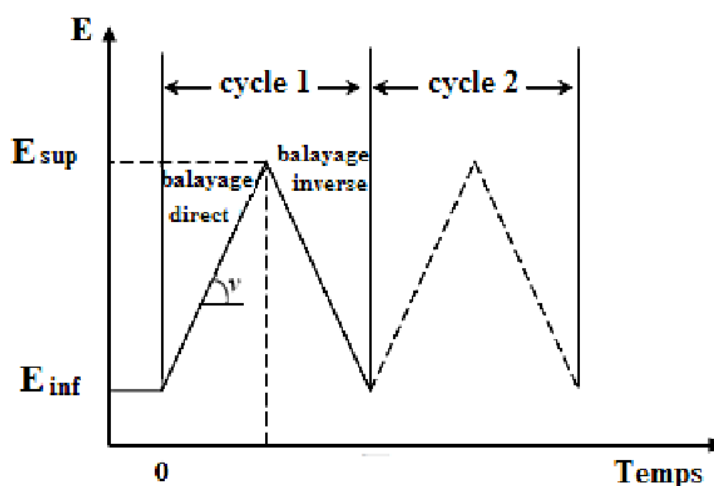


Figure II.5 : Signal d'excitation triangulaire potentiel en fonction de temps utilisé dans la voltammétrie cyclique.

Cette technique consiste à mesurer le courant d'une électrode de travail en fonction d'une différence de potentiel variable imposée entre cette électrode et une électrode de référence. Ce potentiel varie de façon linéaire entre deux valeurs limites E_i (potentiel initial) et E_f (potentiel final), choisies par l'expérimentateur. Avec une vitesse de balayage, nous avons dans :



le cas du balayage vers des valeurs plus positives (l'oxydation)

$$E(t) = E_i + v t$$

- le cas du balayage inverse ou balayage retour vers des valeurs plus négatives (La réduction).

$$E(t) = E_i - v t$$

Où :

t : le temps exprimé en seconde

v : la vitesse de balayage exprimée en V.s-1.

Le principe général de la voltampérométrie cyclique est l'obtention d'une réponse (le courant) à l'excitation (le potentiel) responsable de la réaction électrochimique désirée. Cette opération est réalisée en effectuant une exploration et variation progressive du potentiel d'électrode (balayage de potentiel). Les principales grandeurs caractéristiques d'un voltampérogramme sont données sur la figure II.6.

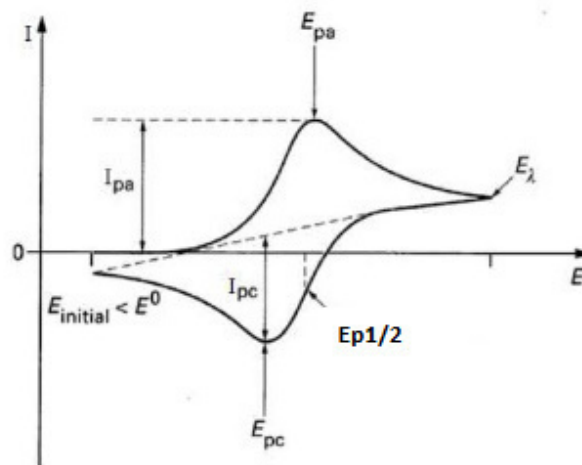


Figure II.6 : Allure d'un voltammogramme cyclique

I_{pa} : courant anodique ;

I_{pc} : courant cathodique ;

E_{pa} : potentiel d'oxydation anodique ;

E_{pc} : potentiel de réduction cathodique.

$E_{p1/2}$: Le potentiel à mi-hauteur du pic cathodique

b) Mécanisme de fonctionnement

Si l'on considère une espèce Red présente en solution au départ, le pic de courant obtenu au balayage allé traduit l'oxydation de Red en Ox avec $I > 0$, c'est le courant anodique (I_{pa}). Quant au balayage retour, il traduit la réduction de l'espèce Ox en Red avec $I < 0$, c'est le courant cathodique (I_{pc}).

Au départ, seule l'espèce Red est en solution, le potentiel initial est choisi pour qu'aucune conversion électrochimique n'ait lieu. Lorsque le potentiel augmente, l'équation de Nernst impose l'augmentation de la concentration en espèce Ox et on observe donc une augmentation du courant anodique au fur et à mesure que la conversion Red \rightarrow Ox se fait.

Le courant augmente jusqu'à ce que le potentiel devienne suffisamment positif pour que la concentration en Red soit négligeable à la surface de l'électrode. A ce moment, l'intensité diminue car la concentration en Red est uniquement maintenue par la diffusion depuis la solution.

Toutefois, la forme générale des voltampérogramme peut être discutée afin d'en extraire les processus électrochimiques mis en jeu durant le balayage en potentiel. En effet, lors du balayage aller ($E_i < E(t) < E_f$), des réactions électrochimiques vont se produire. Elles vont développer des courants faradiques qui seront symbolisés par l'apparition de pics en courant sur le voltampérogramme. On va ainsi former une certaine quantité de produit au voisinage de l'électrode. Lors du balayage retour ($E_f < E(t) < E_i$), il va y avoir inversion du sens des réactions électrochimiques. Ainsi, il est possible de reformer le réactif initial si celui-ci n'a pas subi de réactions chimiques irréversibles couplées au processus électrochimique. Cela va s'exprimer par l'apparition ou non de pics durant l'inversion du sens de balayage. On peut ainsi identifier les processus mis en jeu. Par ailleurs, le contrôle de la vitesse de balayage en potentiel nous permet de caractériser la cinétique du système. En effet, si le système est lent, aucun pic n'apparaîtra pour des balayages plus rapides que sa cinétique. Par contre, dans un système rapide composé d'étapes successives, celles-ci pourront être séparées par un balayage plus rapide que leur cinétique.

L'allure et la forme du voltampérogramme cyclique dépendent, donc, de la nature et de la rapidité du système électrochimique considéré. Dans le cas d'un système rapide Ox/Red, la loi simplifiée de Nernst suffit à expliquer les différents phénomènes. Dans le cas d'un système lent, au lieu de la relation de Nernst, pour prendre en compte les vitesses réactionnelles à la

surface des électrodes, on utilise la relation de Butler-Volmer [55-56]. Les expressions mathématiques du courant et du potentiel du pic ont été développées initialement pour un balayage allé par Randels et Sevcik [57] pour des systèmes rapides et par Delahay pour des systèmes lents [58]. Les travaux de Nicholson et Shain ont permis la mise au point des relations décrivant les courbes expérimentales des balayages cycliques [59]. Il existe, donc, des critères permettant de différencier ces différents systèmes en voltampérométrie cyclique [60-61].

c) Critères des processus réversible, irréversible et quasi-réversible.

❖ Cas d'un système rapide (réversible)

Un système rapide est défini comme étant un système dans lequel le processus de transfert de charge entre l'électrode et les espèces électroactive est beaucoup plus rapide que le processus de transport des espèces du sein de la solution vers la surface de l'électrode. La figure II.7 présente le profil du voltampérogramme cyclique obtenu

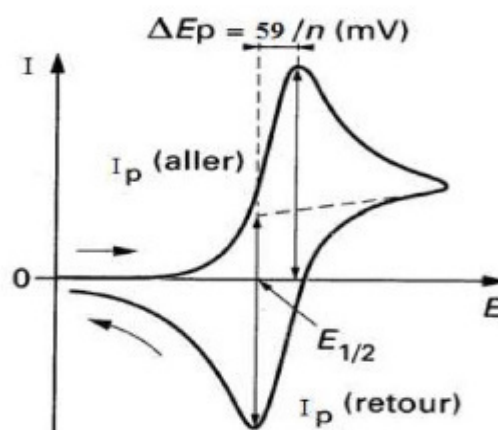


Figure II.7 : Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système rapide.

❖ Cas d'un système lent (irréversible).

Lorsque la vitesse de transfert de charge devient plus faible comparée à la vitesse de transfert de matière, le système est dit irréversible. Le courant reste proportionnel à la concentration et à la racine carrée de la vitesse de balayage, mais il est plus faible en raison de la teneur de la cinétique du transfert électronique. Cette cinétique est exprimée par le coefficient de transfert (α) et apparaît dans l'équation régissant l'intensité du pic I_p . La figure II.8. présente le profil du voltampérogramme cyclique obtenu.

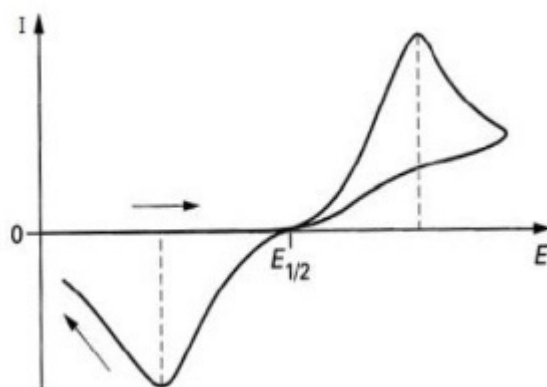


Figure II.8 : Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système lent.

❖ Cas d'un système quasi-rapide (quasi-réversible)

L'étude de ce type de système a été réalisée par H. Matsuda et Y. Ayabe qui ont qualifié de quasi-réversibles les réactions correspondant à un transfert de charge lent et pour lequel, cependant, la réaction inverse doit être prise en considération. Pour une telle réaction, l'intensité du courant n'est plus strictement linéaire vis-à-vis de la racine carrée de la vitesse de balayage. La figure II.9 présente le profil du voltampérogramme cyclique obtenu.

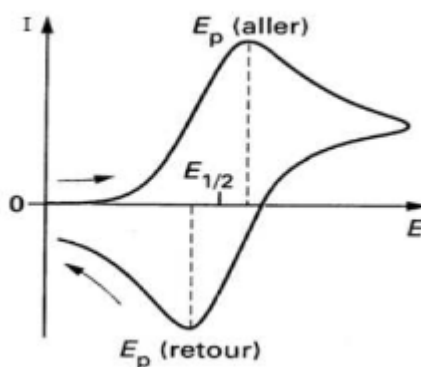


Figure II.9 : Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système quasi-rapide.

Dans la pratique, selon la vitesse de balayage du potentiel, un système donné peut apparaître réversible, quasi-réversible ou totalement irréversible.

II.3.2. Voltamétrie par impulsion

La voltampérométrie par impulsion (pulsed voltammetry) est une méthode introduite par Barker et Jenkin (1952) [62] où le potentiel imposé à l'électrode de travail est une

combinaison de balayage et d'impulsion de potentiel, le tout dans le but principal est d'augmenter la sensibilité de la technique. Dans le voltampérogramme obtenu, le courant se présente sous forme sigmoïde ou de pic dont la valeur maximale est directement proportionnelle à la concentration de l'espèce électroactive en solution. La voltampérométrie par impulsion exploite la différence entre les vitesses de décroissance des courants capacitif et faradique suite à une impulsion de potentiel (Figure II.10) où le courant capacitif décroît de manière exponentielle alors le courant faradique décroît comme une fonction $1/(t^{1/2})$. La vitesse de décroissance du courant capacitif est alors très rapide devant celle du courant faradique. Une fois l'impulsion est appliquée, le courant capacitif devient rapidement négligeable et après un temps très court, le courant mesuré est seulement de nature faradique.

Ainsi la mesure du courant à la fin de l'impulsion permet donc une discrimination et une séparation entre courant faradique et courant capacitif [62].

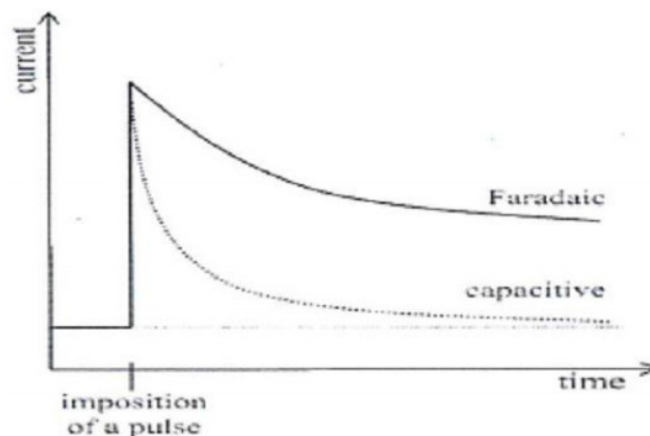


Figure II.10: Schéma montrant les décroissances des courants faradique et capacitif après une impulsion de potentiel [63].

Selon la forme du signal de potentiel imposé, on distingue plusieurs techniques de voltampérométrie par impulsion :

- Voltampérométrie par échelon (Staircase voltammetry ; SCV).
- Voltampérométrie à impulsion normale (Normal pulse voltammetry ; NPV).
- Voltampérométrie à impulsion différentielle (Differential pulse voltammetry ; DPV).
- Voltampérométrie à vague (onde) carrée (Square wave voltammetry ; SWV).

❖ Voltamétrie à impulsions différentielles

La voltampérométrie à impulsions différentielles (DPV) également appelée la voltamétrie différentielle par puce de potentiel est une technique qui consiste à appliquer des impulsions d'amplitude de potentiel sur un potentiel de rampe linéaire. En DPV, une valeur de potentiel de base est choisie pour laquelle il n'y a pas de réaction faradique et il est appliquée à l'électrode de travail. Le potentiel de base augmente entre les impulsions avec des incréments égaux.

La voltamétrie à impulsions différentielles est utilisée à la fois pour l'analyse chimique quantitative et pour étudier le mécanisme, la cinétique et la thermodynamique des réactions chimiques.

a) Principe

La voltampérométrie à impulsion différentielle (Differential pulse voltammetry ; DPV) est une technique proposée par Barker et Gardner dans laquelle on applique à l'électrode de travail une impulsion (pulse), de hauteur (PH) et de durée (Pw), surimposée à une rampe de potentiel en escalier (step), d'incrément de potentiel (SH) et de durée (ST) relativement longue. La DPV est caractérisée par des impulsions de forte hauteur et de courte durée surimposées à la fin de chaque increment de potentiel. Le courant est mesuré deux fois : immédiatement avant l'impulsion, donnant un courant (I_1) et à la fin de l'impulsion, donnant un courant (I_2) puis la différence entre les deux courants $\Delta I = (I_2 - I_1)$ sont enregistrés en fonction du potentiel imposé. Dans le voltampérogramme obtenu (Figure II.11), le courant se présente sous forme de gaussienne dont la valeur maximale est directement proportionnelle à la concentration de l'espèce électroactive en solution [64].

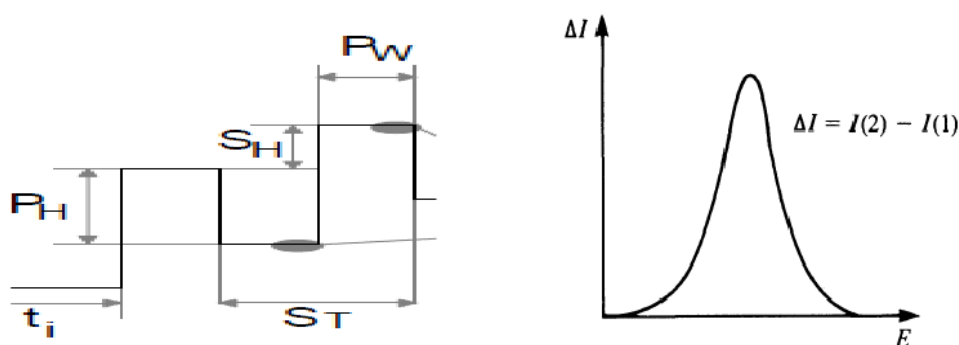


Figure II.11: Schémas de potentiel appliqué et de voltampérogramme obtenu dans la DPV[63].

b) Mécanisme de la méthode

La DPV est une technique différentielle similaire à la première dérivée d'un voltammogramme linéaire dans laquelle la formation d'un pic est observée pour un processus redox donné.

Dans la technique de balayage linéaire, le voltammogramme a une forme similaire à une onde et la première dérivée est à l'origine d'un pic. En voltamétrie à balayage linéaire, comme en polarographie (électrode à goutte de mercure), l'information qualitative d'un analyte est donnée par le potentiel demi-onde ($E_{1/2}$), qui correspond au potentiel à la moitié de la hauteur d'onde. De même, en DPV, le potentiel de crête, E_p , peut être approximativement identifié avec $E_{1/2}$. En augmentant l'irréversibilité, E_p s'écarte d' $E_{1/2}$ à mesure que la base du pic s'élargit et que sa hauteur diminue. Le DPV est donc un graphique des différences entre les courants mesurés et les potentiels appliqués (Figure II.12)[65].

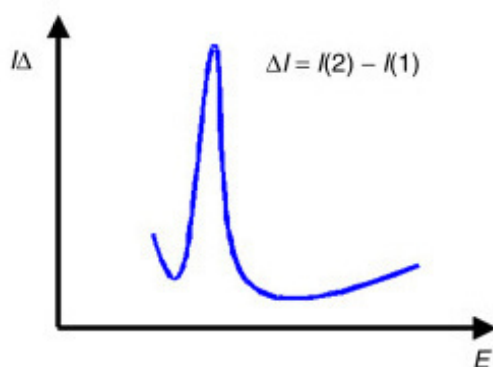


Figure II.12 : Réponse typique d'un voltammogramme à impulsions différentielles [65].

Les meilleures réponses obtenues avec l'utilisation de la DPV, par rapport à la voltamétrie pulsée normale, sont sur des électrodes solides [65], en particulier celles impliquant des composés organiques. Comme ils sont généralement adsorbés par l'électrode, il est possible qu'une technique différentielle discrimine les effets plus ou moins constants avant et après l'application des impulsions.

En général, les techniques d'impulsions, telles que DPV, sont plus sensibles que les méthodes de balayage linéaire car il y a une minimisation du courant capacitif. À son tour, le CV est le plus souvent utilisé à des fins exploratoires. Ainsi, en général, il n'est pas inhabituel dans le développement de capteurs d'utiliser les deux techniques car CV fournit des informations essentielles, telles que la réversibilité du processus et les types de processus redox présents

dans l'analyse (matrice, analyte et électrode), alors que les techniques d'impulsion sont utilisées pour les dosages quantitatifs.

c) Voltammétrie différentielle impulsionnelle d'un système redox réversible

Dans le cas simple d'un système redox réversible, le courant net de pic obtenu dans la DPV est donné par la relation [66] :

$$\Delta I_p = \frac{nFA D^{1/2} C^* \varphi}{\pi^{1/2} t_p^{1/2}}$$

$$\varphi = \frac{1 - \sigma}{1 + \sigma} \quad \sigma = \exp\left(\frac{nF\Delta E_p}{RT}\right)$$

Avec

ΔI_p : Courant net de pic (A) ;

ΔE_p : Hauteur d'impulsion (V) ;

t_p : Durée d'impulsion (s) ;

φ : Fonction dont la valeur tend vers l'unité près du pic ;

n : nombre d'électrons transférés ;

A : surface de l'électrode de travail (cm) ;

D : coefficient de diffusion de l'espèce électroactive (cm/s) ;

F : constante de Faraday (C/mol) ;

T : la température (K)

R : la constante des gaz parfaits (8.314 J/mol·K).

Dans la DPV, le potentiel de pic (E_p) est relié au potentiel de demi-vague du système redox ($E_{1/2}$) ainsi qu'à la hauteur de l'impulsion imposée par la relation :

$$E_p = E_{1/2} \pm \frac{\Delta E_p}{2}$$

Dans cette équation, le signe (-) pour une oxydation où le potentiel de pic est décalé vers les valeurs négatives par rapport à ($E_{1/2}$) et le signe (+) pour une réduction où le potentiel de pic est décalé vers les valeurs positives par rapport à ($E_{1/2}$).

Pour une réaction idéalement réversible, la largeur de pic à mi-hauteur ($W_{1/2}$) est donnée par la relation :

$$W_{1/2} = \frac{90,4}{n}$$

Ainsi, pour une réaction réversible à un seul électron, $W_{1/2}$ est égale à 90,4 mV et pour une réaction réversible à 2 électrons, $W_{1/2}$ est égale à 45 mV.

En pratique, la DPV est réalisée à une vitesse de balayage de potentiel faible (5-20 mV/s), des impulsions de hauteur 25-50 mV et une durée d'impulsion faible d'environ 50 ms. La DPV peut être utilisée dans l'analyse simultanée de plusieurs espèces électroactives et montre une bonne résolution où des pics séparés par 50 mV peuvent être mesurés. La nature des impulsions et la mesure différentielle de courant est à l'origine de sa grande sensibilité qui peut être de l'ordre de $10^{-7} M/10^{-8} M$ (1 μ g/L).

II.3.3. Appareillage des méthodes électrochimiques

En général, on utilise des solutions contenant outre les espèces électroactives, un sel d'électrolyte support totalement dissocié (NaCl) permettant de saturer la solution afin de se placer en régime de diffusion pure. La figure II.13. Donne le schéma de base d'un montage expérimental couramment.

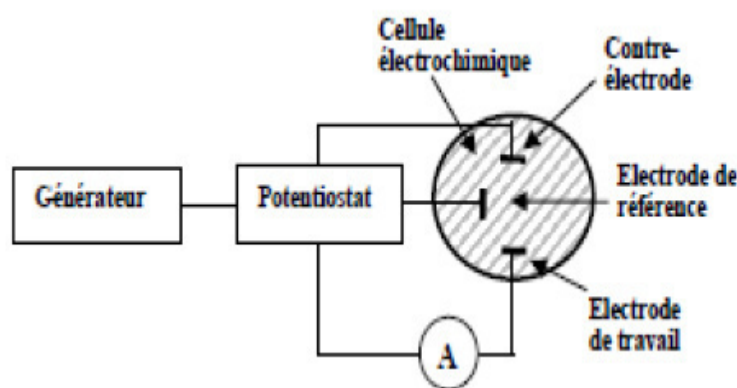


Figure II.13 : Schéma du dispositif expérimental pour les mesures à potentiel contrôlé.

Utilisé dans toutes expériences électrochimiques une unité de base d'un tel montage (analyseur voltampérométriques), c'est une cellule basée sur un système à trois électrodes immergées dans la solution à analyser.

Les trois électrodes sont :

➤ **Une électrode de travail**

L'électrode de travail est encore nommée électrode indicatrice, c'est à son contact que va se produire la réaction d'oxydation ou de réduction de l'analyte suite à la variation de potentiel. En règle générale, l'électrode de travail doit être stable pendant

une très grande période, doit posséder un bon rapport signal/bruit du fond et doit être également simple à manipuler et à conditionner. De plus, les solutés à analyser doivent y développer une cinétique de réaction électrochimique rapide dans un large domaine de potentiel accessible [67]. Elle peut être de différentes natures, c'est-à-dire réalisée dans des matériaux conducteurs différents, tel que :

- Les métaux (mercure, platine, or, argent, cuivre ou nickel par exemple, ou des alliages)
- Les matériaux non métalliques (graphite ou carbone vitreux par exemple) ;
- Les matériaux organiques tels que les polymères conducteurs par exemple.

L'électrode de travail utilisée pour l'analyse peut alors être choisie notamment en fonction du potentiel d'oxydation ou de réduction d'une espèce particulière que l'on souhaite analyser.

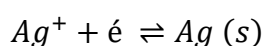
L'électrode de platine est très fréquemment utilisée, car elle présente une grande résistance à l'oxydation. En solution aqueuse, en absence d'oxygène dissous, l'électrode de platine permet de travailler, suivant le pH, de -1,1 V à +1 V (par rapport à l'électrode normale à hydrogène, ENH). Elle se recouvre aux potentiels positifs ($E > 1 \text{ V} / \text{ENH}$) d'oxyde de platine qui ne se redissout qu'au-dessous de 0,65 V / ENH. Elle peut, de plus, adsorber de nombreuses substances ce qui entraîne l'existence d'un courant résiduel important et des phénomènes de blocage de surface irréversible.

➤ Une électrode de référence

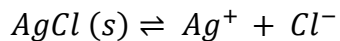
C'est une électrode dont le potentiel est remarquablement stable même lorsqu'elle débite de faibles courants. Comme son nom l'indique, elle sert de référence au potentiostat afin d'appliquer une différence de potentiel exacte entre cette électrode et l'électrode de travail, et ainsi de faire varier de façon exacte et connue le potentiel appliqué à l'électrode de travail.

Son potentiel est fixé par l'équilibre rédox entre l'argent métallique (Ag) et les ions Ag^+ dont la concentration est fixée par la solubilité du chlorure d'argent (AgCl).

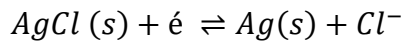
Cet équilibre peut être décrit par la demi-équation suivante :



Associé à la solubilité d'AgCl :



Ce qui donne finalement :



La relation de Nernst pour cette dernière demi-équation montre la dépendance du potentiel de cette électrode à l'activité des ions chlorures :

$$E = E^{\circ}_{AgCl/Ag} - \frac{RT}{F} \ln \alpha Cl^-$$

Le potentiel standard $E^{\circ}_{AgCl/Ag}$ par rapport à l'électrode standard à hydrogène (ESH) vaut 0.222v.

➤ **Une électrode auxiliaire**

L'électrode auxiliaire est choisie pour que ses propriétés électrochimiques n'affectent pas le comportement de l'électrode de travail : lors de l'électrolyse, il ne doit pas y avoir de production d'espèces qui puissent atteindre l'électrode de travail et y engendrer des réactions parasites. En analyse, ce montage à trois électrodes est proposé pour minimiser les effets de la chute ohmique, ce qui a pour conséquence de diminuer la déformation des voltampérogrammes. Généralement l'électrode auxiliaire est de grande taille par rapport à l'électrode de travail de façon à ne pas limiter le courant traversant le circuit d'électrolyse. Cette électrode assure le passage du courant engendré par les réactions étudiées à l'électrode de travail.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE

EXPERIMENTALE



CHAPITRE III

Matériels et méthodes

III.1. Introduction

L'objectif de notre travail est le dosage de la clarithromycine en milieu pharmaceutique (médicament de CLARITAL®, 500mg). Pour cela on va utiliser deux méthodes physico-chimiques pour la détermination quantitative, l'une est la spectrophotométrie en UV et l'autre est la méthode électrochimique.

Le protocole expérimental de l'étude spectrophotométrique en UV comprend plusieurs étapes, qui sont les suivants:

- ❖ Préparation des solutions:
 - Préparation des solutions mères (étalon/ pharmaceutique).
 - Préparation du réactif de dérivation (DHB-S).
 - Préparation de la solution de NaOH.
 - Procédure de dérivation chimique.
- ❖ Optimisation des conditions de la dérivation chimique :

C'est la recherche des conditions optimales d'une manière graduelle. Les paramètres qui influent sur la sélectivité sont :

 - La nature du solvant.
 - La concentration du réactif DHB-S ($V_{\text{DHB-S}}$).
 - Le milieu alcalin (V_{NaOH}).
 - Le temps de réaction.
 - La température du milieu.
- ❖ Validation et application de la méthode d'analyse :
 - La linéarité.
 - Application en milieu pharmaceutique.

L'étude électrochimique va dérouler à l'aide de deux méthodes, qui sont : la voltammétrie cyclique (CV) et la voltamétrie impulsionnelle différentielle (DPV). Cette étude sera réalisée en quelques étapes comme suite :

- ❖ La préparation des solutions (étalon/ pharmaceutique).
- ❖ La préparation d'électrolyte support et la solution tampon.

- ❖ La fixation des paramètres expérimentaux optimaux pour les deux méthodes (CV/DPV).
- ❖ Application en milieux analytique et pharmaceutique.

III.2. Etude spectroscopique par UV

III.2.1. Matériels et produits

Matériels

Toutes les études spectrophotométriques, en utilisant DHB-S, ont été faites avec un spectrophotomètre à double faisceau UV/Vis (Figure III.1). Les spectres étaient automatiquement obtenus par le logiciel UV- Express Version 4.1.0. Les absorbances en UV ont été mesurées en utilisant des cuves en quartz (1cm).

La température a été contrôlée par une étuve de modèle de Memmert (Büchenbach, Allemagne). Les solutions ont été préparées et ensuite agitées à l'aide d'un agitateur magnétique de type Vortex (Genèse, Belgique). Une balance électronique a été utilisée pour peser les échantillons.



Figure III.1 : spectrophotomètre Cary 60 UV-VIS Agilent

Produits chimiques

Etalon de clarithromycine : il a été acheté chez la maison Sigma-Aldrich (Steinheim, Allemagne).

Produit pharmaceutique : le médicament utilisé au cours de cette étude est : CLARITAL®, 500mg (SOPHAL, Algérie).

Réactifs et solvants organiques : L'hydroxyde de sodium a été acheté chez Sigma-Aldrich (Steinheim, Allemagne). Le méthanol, l'éthanol, et l'acétone sont de qualité analytique. L'agent dérivant de DHB-S (Acide 2,5 **Di-Hydroxy Benzène Sulfonique**, sel monosodique) ($C_6H_5NaO_5S$) est de la même source. L'eau distillée était produite par notre laboratoire à l'aide du système Milli-Q (Burgwedel, Allemagne), et filtrée sur des membranes type FH de diamètre 0,45 μ m.



Figure III.2 : Clarithromycine pure
(Étalon)



Figure III.3 : Produit pharmaceutique de clarithromycine
(CLARITAL®, 500mg)

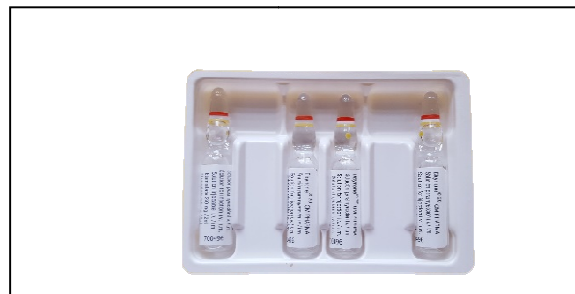


Figure III.4: Agent dérivant
de DHB-S

III.2.2. Méthode expérimentale

❖ Préparation de différentes solutions

- Préparation des solutions mères :

Dans l'objectif de préparer des solutions mères d'une concentration de 1mg/ml, on a dissous une masse de 250 mg de clarithromycine pure (étalon) dans un volume de 250 ml d'éthanol. La procédure a été faite avec la clarithromycine pharmaceutique (CLARITAL®, 500mg).



Figure III.5 : Solutions mères

- Préparation du réactif DHB-S

La solution de DHB-S a été préparée en diluant 0,5 ml du réactif DHB-S dans un volume approprié de l'eau distillée. La solution a été fraîchement préparée et mise à l'abri de la lumière.

- Préparation de la solution NaOH

Pour préparer une solution d'hydroxyde de sodium de concentration 0,2M, on a dissous une masse de 2g d'hydroxyde de sodium dans un volume de 250ml de l'eau distillée.

- Procédure de dérivation chimique

Pour chaque solution, un volume de 1,0 ml de macrolide (CLA) d'une concentration bien définie (1mg/ml) a été transféré dans une fiole jaugée de 10 ml, puis des volumes V_1 ml de solution d'hydroxyde de sodium (0,2 M) ont été ajoutés, suivi par des autres volumes de V_2 ml de DHB-S.

Ces solutions ont été agitées et maintenues à température ambiante pendant quelques minutes (20 min). Après la dilution, l'absorbance a été mesurée à 380 nm, en utilisant le blanc correspondant à chaque test.

❖ Optimisation des conditions de la dérivation chimique

• Nature du solvant

Dans notre étude, la nature du solvant est un facteur important affectant sur la réaction du DHB-S avec le macrolide (CLA), car il joue le rôle de faciliter le transfert des charges, et de permettre la dissociation ou la stabilisation des complexes formés. Pour voir l'influence du solvant sur la formation des complexes CLA-DHB-S, plusieurs solvants répandus en ce domaine ont été testés.

Pour chaque solvant (H₂O / acétone /éthanol /méthanol), un volume de 1ml de macrolide (CLA) a été transféré dans une fiole, puis des volumes de V=1ml de la solution d'hydroxyde de sodium (0,2M) et V=1ml de la solution du réactif DHB-S, ont été ajoutés.

• Influence de volume du solvant

Pour bien comprendre l'influence du solvant choisi dans l'étape précédente, on a ajoutée à 1ml de macrolide un volume de 1ml d'hydroxyde de sodium et d'autres volumes variantes du solvant sélectionné, dans une gamme allant de 0,25 à 1,75ml.

• Concentration du réactif DHB-S ($V_{\text{DHB-S}}$)

La concentration d'agent de dérivation (DHB-S) est un facteur plus important, contribuant à la formation des dérivés (PA-DHB-S). L'augmentation de la quantité de ce réactif favorise la réaction, ce qui permet d'obtenir une bonne quantification. Donc, on a étudié le changement de la concentration de DHB-S, pour ne pas avoir un excès de ce réactif et de diminuer la consommation des produits, en faisant varier le volume de DHB-S dans une gamme de 0,5-3.00 ml.

- **Influence du milieu alcalin (V_{NaOH})**

Pour montrer l'influence du milieu alcalin, une série des essais dans la gamme de 0,25-2.00 ml a été faite, avec des volumes différents de NaOH (0,2 M). Les mesures de l'absorbance ont été réalisées après les 20 minutes qui suivent la préparation des échantillons.

- **Effet du temps de la réaction**

Une étude de l'influence du temps de la réaction, à différentes valeurs (5-25 minutes) sur la formation et la stabilité des complexes, a été réalisée.

- **Influence de la température**

Pour montrer l'effet de la température sur la réaction de dérivation, entre le macrolide et le DHB-S, et sur la stabilité des complexes formés, des mélanges de clarithromycine avec le réactif DHB-S en milieu alcalin ont été préparés et étudiés dans plusieurs valeurs de température, qui sont : 25, 30, 35, 40, 45°C.

- ❖ **Validation et application de la méthode d'analyse**

- **La linéarité**

Il s'agit de vérifier la linéarité de la clarithromycine sur la gamme des concentrations étudiée. Le protocole appliqué à la linéarité nécessite des dilutions successives dans un intervalle de 5 concentrations de 1 à 30 $\mu\text{g/ml}$. Chaque solution a été préparée et testée trois fois ($n=3$).

- **Application en milieu pharmaceutique :**

Afin d'étudier le rendement de la méthode, pour notre médicament (CLARITAL®, 500mg), nous avons préparé des solutions à des concentrations bien définies. Chaque solution a été analysée 3 fois de la même manière.

III.3. Etude électrochimique par voltammétrie cyclique et par voltammétrie impulsionnelle différentielle

III.3.1. Instrumentation et produits

✚ Instrumentation

❖ Cellules électrochimiques

Les études par voltammétrie cyclique et par voltammétrie impulsionnelle différentielle sont réalisées dans une cellule électrochimique simple en verre pouvant un réservoir de trois électrodes, ayant une capacité de 40 ml (Minimum) et 200 ml (Maximum) (Figure III.6).

❖ Electrodes utilisées

- Electrode de travail : en platine de 3mm (Figure III.6).
- Electrode de référence : c'est une électrode au chlorure d'argent (3.0 mol L^{-1}) (Ag/AgCl).
- Contre-électrode : en platine.

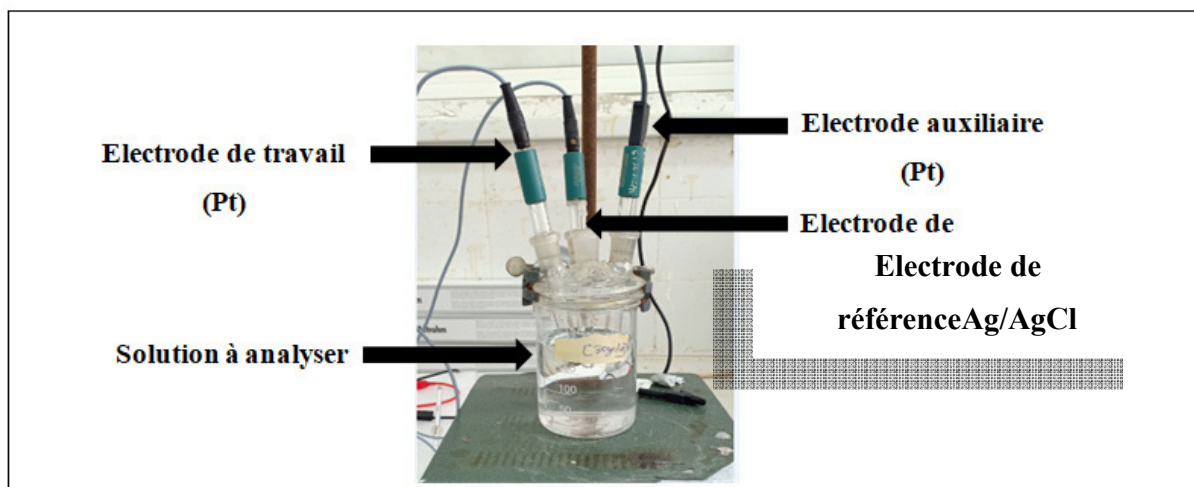


Figure III.6 : Cellule électrochimique à trois électrodes.

❖ Appareillage électronique

- **AUTOLAB (Metrohm Booster 10A)** : fonctionné avec le logiciel de Nova 1.10.4.

Il permet de produire un signal triangulaire (voltammétrie cyclique), et de contrôler la tension entre l'électrode de travail et la contre électrode. Il permet également de réguler cette tension de manière à maintenir la différence de potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence, conforme au programme fourni par le générateur.

- **Micro-ordinateur (PC HP PRO G3)** : avec un système d'exploitation de Windows XP SP3, qu'est compatible avec le Logiciel Nova (2.0). Il permet de visualiser et d'enregistrer les différentes courbes obtenues dans les études voltamétriques ($I=f(E)$).

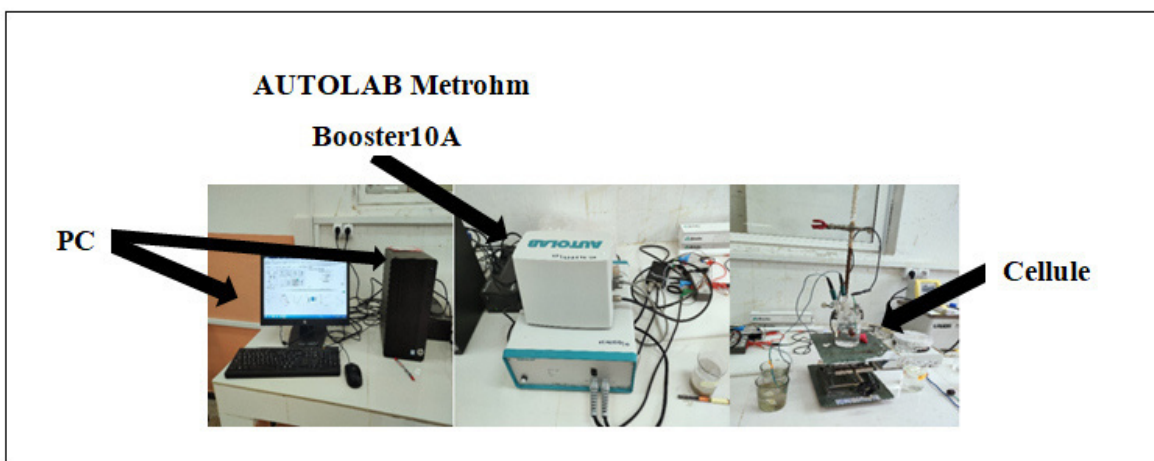


Figure III.7 : Equipement électrochimique utilisée.

**Produits chimiques**

- **Réactifs et solvants organiques :**
 - Sodium dihydrogen phosphate, NaH_2PO_4 (Figure III.8)
 - Ethanol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
 - Chlorure de sodium NaCl (Figure III.9)

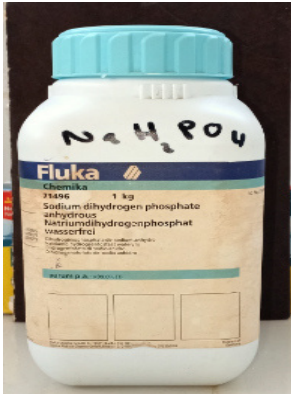


Figure III.8 : Phosphate monosodique de sodium

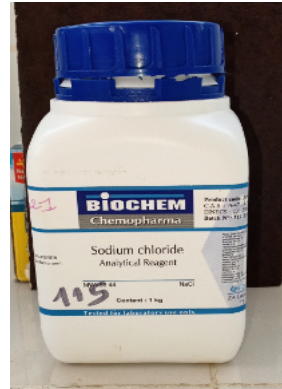


Figure III.9 : Chlorure de sodium

- **Produit à analysé** : Clarithromycine ($C_{38}H_{69}NO_{13}$), d'une masse molaire de 747,953 g/mol.

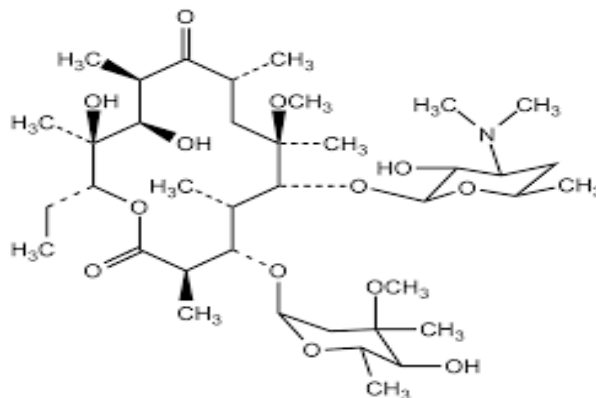


Figure III.10 : structure chimique de clarithromycine.

III.3.2. Méthode expérimentale

❖ Préparation des solutions (étalon/ pharmaceutique)

Dans l'objectif de préparer les solutions mères de concentration 1mg/ml, on a dissous une masse de 250mg de clarithromycine pure dans un volume de 250ml d'éthanol. Par la suite, on a fait la même chose avec le produit pharmaceutique (CLARITAL 500mg).

❖ Préparation d'électrolyte support de NaCl

La solution électrolyte support (0,1M) a été préparée comme suit : on a dissous une masse de 0,3g du chlorure de sodium dans un volume de 50ml d'eau distillée.

❖ La préparation de la solution tampon de NaH_2PO_4

Pour préparer une solution tampon à une concentration de 0,03M, on a dissous une masse de 0,18g de sodium dihydrogen phosphatedans dans un volume de 50ml d'eau distillée.

❖ Procédure

Un volume V1 de macrolide d'une concentration bien définie est mélangé avec un volume V2 d'électrolyte support (pH=7.0), puis le mélange est introduit dans la cellule électrochimique pour une période de 30 min. En suite, à l'aide d'un Autolab Metrohm (Booster 10A) équipé par le logiciel Nova 2.0, les différents voltammogrammes sont enregistrées ($I = f(E)$).

❖ Paramètres optimaux pour les deux méthodes (CV/DPV)

L'étude électrochimique a été réalisée en utilisant les paramètres suivants:

- Vitesse de balayage : $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$
- Potentiel de balayage (CV): $[-0,5 ; +0,6] / \text{Ag/AgCl, KCl}$
- Potentiel de balayage (DPV): $[0,0 ; +0,9] / \text{Ag/AgCl, KCl}$



CHAPITRE IV

Résultats et discussion

IV.A. Etude spectrophotométrique en UV

IV.1. Introduction

Un développement d'une méthode spectrophotométrique pour la détermination quantitative de la clarithromycine en milieu pharmaceutique a été réalisé. Afin d'atteindre la sensibilité et la sélectivité maximale, l'optimisation des conditions expérimentales a été faite, en explorant la réaction de transfert de charge de ce macrolide avec un agent dérivant de type DHBS-S.

L'effet de la nature du solvant, l'influence de la concentration du réactif, l'influence de la concentration du milieu alcalin (NaOH), le temps nécessaire pour compléter la réaction et la température du milieu ont été étudiés.

IV.2. Détermination de la longueur d'onde maximale

La réaction entre la clarithromycine et le DHBS-S en milieu basique (NaOH), entraîne à la formation des complexes de couleur orange.

Selon les résultats obtenus et les informations données par la bibliographie, on a fixé notre choix à la valeur de 380 nm, car les complexes de ce macrolide présentent une importante absorbance en UV à cette longueur d'onde, avec des réponses optimums du détecteur.

IV.3. Optimisation des conditions de la dérivation chimique

IV.3.1. Influence des solvants

Pour voir l'influence du solvant sur la formation de complexes PA- DHBS-S, plusieurs solvants répandus en ce domaine ont été testés, et les résultats de cette étude sont donnés dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1 : Influence de la nature du solvant sur l'absorbance de CLA- DHBS-S

Solvant	H ₂ O	Ethanol	Méthanol	Acétone
Abs	0,1711	0,4736	0,2112	1,3079

En vue de cette étude, l'éthanol a été étudié en tant que solvant de la réaction. L'eau et un autre solvant organique (le méthanol) ont été également examinés mais, les résultats d'absorbance étaient très faibles.

Dans une autre étape, l'acétone a été utilisée. Elle s'est avérée plus appropriée et montrée une excellente absorbance en UV.

Notons que, la meilleure sensibilité du détecteur a été atteinte avec de l'acétone. Ceci probablement à cause de la grande solubilité du DHBS-S dans l'acétone et de sa capacité de former des liaisons stables avec le complexe.

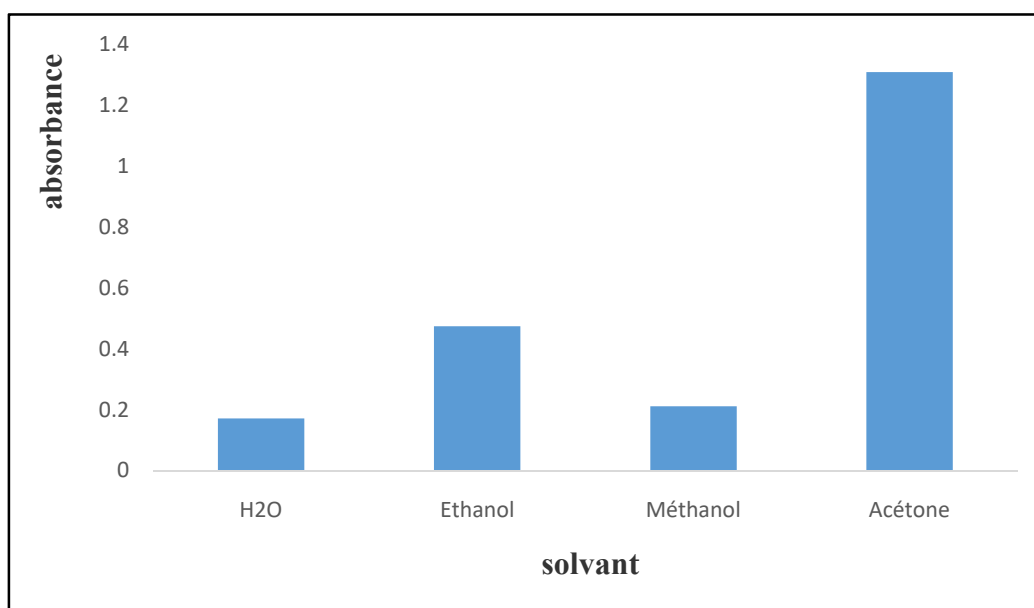


Figure IV.1 : Influence de la nature du solvant sur l'absorbance de PA-DHB-S

Basé sur les résultats obtenus, on a conclu que le milieu organique (acétone) est nécessaire pour l'optimisation de la réaction de notre système. Par conséquent, et afin d'obtenir la plus haute sensibilité pour notre méthode, l'acétone a été choisie comme solvant pour la suite de notre travail.

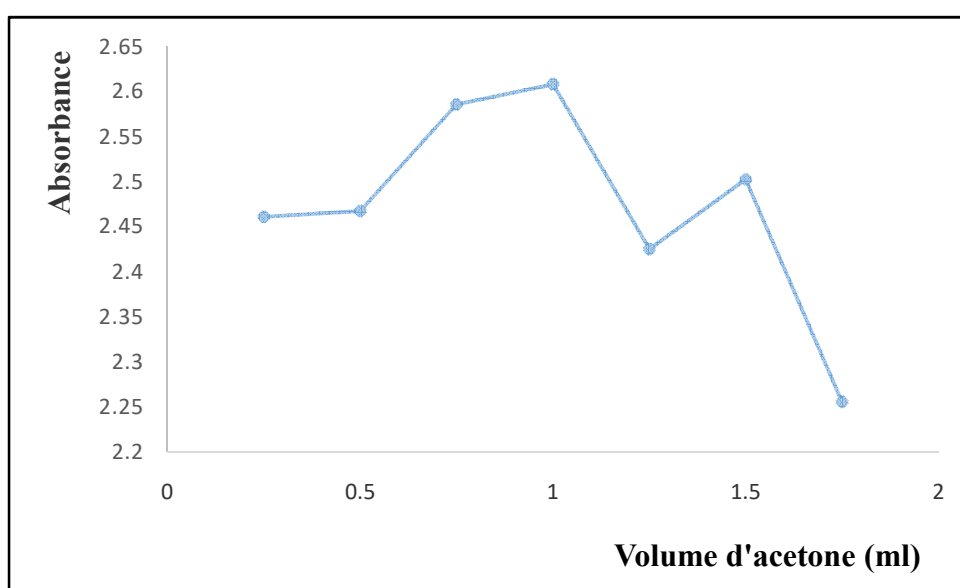
❖ Influence de volume du solvant (acétone)

Le volume du solvant (l'acétone) est un facteur important, contribuant à la formation des dérivés CLA- DHBS-S. L'augmentation de la quantité de ce solvant favorise la réaction et, permet d'obtenir une bonne quantification. En faisant varier le volume du solvant de 0,25-1,75 ml. Les résultats sont présentés dans le Tableau IV.2.

Tableau IV.2 : Effet de volume du solvant acétone sur l'absorbance du complexe PA-DHB-S

Volume d'acétone (ml)	0.25	0.5	0.75	1	1.25	1.5	1.75
Abs	2.4607	2.4674	2.5857	2.6080	2.4250	2.5673	2.2554

La Figure IV.2 représente la variation du volume de l'acétone en fonction de l'absorbance des dérivés obtenus. L'observation de cette courbe montre que, dans l'intervalle de 0,25-1 ml, l'augmentation du volume d'acétone conduit à l'augmentation de l'absorbance. Ensuite, l'absorbance va diminuer par l'augmentation du volume d'acétone à partir de cette valeur avec un changement variable, ce qui nous permet de dire que les volumes plus élevés d'acétone n'ont eu aucun effet sur les valeurs d'absorption. On observe également que, la plus haute absorbance a été atteinte lorsque le volume d'acétone est de 1,00 ml. En se basant sur ces résultats obtenus, on a décidé de choisir ce volume d'acétone pour la suite des travaux.

**Figure IV.2** : Effet de volume du solvant acétone sur l'absorbance du complexe PA-DHB-S.

IV.3.2. Effet de la concentration du réactif (volumes de DHBS-S)

Dans cette partie du travail, on va étudier le changement de la concentration du DHBS-S, dans une gamme de 0,5-3.00 ml, tandis que la concentration de clarithromycine est maintenue à 30 µg/ml. Les résultats sont présentés dans le Tableau IV.3.

Tableau IV.3 : Effet de la concentration du DHBS-S sur l'absorbance du complexe PA-DHBS-S

Volume du DHBS-S (ml)	0.5	1	1.5	2	2.5	3
Abs	1.0766	1.4845	1.6546	2.0783	1.6832	1.5670

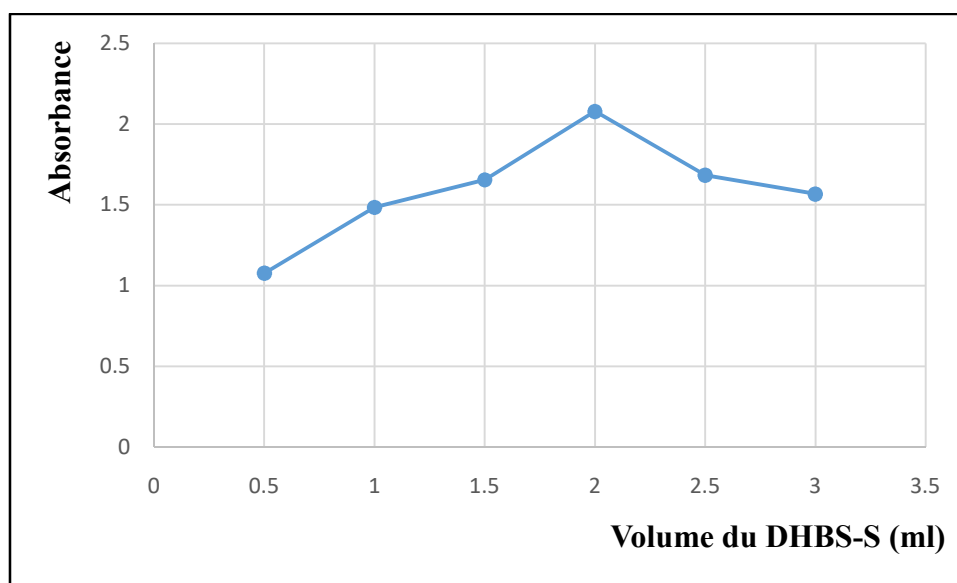


Figure IV.3 : Effet de la concentration du réactif (volumes DHBS-S) sur l'absorbance de complexe PA- DHBS-S

La Figure IV.3 représente la variation de la concentration du DHBS-S en fonction de l'absorbance des dérivés obtenus. L'observation de cette courbe montre que, dans l'intervalle de 0,5 -2.00 ml, l'augmentation de la concentration du DHBS-S conduit à l'augmentation de l'absorbance.

Ensuite, l'absorbance va diminuer par l'augmentation de la concentration de DHBS-S à partir de ce point de 2.00 ml, mais avec une faible variation, ce qui nous permet de dire que les volumes ajoutés à partir de cette valeur n'ont eu aucun effet sur les valeurs d'absorbance. Cette étude a révélé que la réaction dépendait du réactif du DHBS-S. On observe également que, la plus haute absorbance a été atteinte lorsque le volume de DHBS-S est de 2.00 ml. En se basant sur les résultats obtenus, on a décidé de choisir cette concentration de DHBS-S pour la suite des travaux.

IV.3.3. Influence du milieu alcalin (volumes de NaOH)

Dans les réactions de dérivation, le DHBS-S va réagir avec les groupes d'amines des macrolides, et formé des produits chromophores de couleur orange en milieu alcalin (hydroxyde de sodium). Les résultats de l'influence de la concentration de NaOH sur la formation des complexes de PA- DHBS-S à une température ambiante, sont regroupés dans le Tableau IV.4.

Tableau IV.4. Influence des volumes de NaOH sur l'absorbance du complexe PA-DHBS-S.

V _{NaOH} (ml)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	2.00
Abs	1.0147	1.5871	1.9840	1.4770	1.2552	1.4707	1.6521

La concentration optimale de l'hydroxyde de sodium a été déterminée, en ajoutant divers volumes de NaOH (0,2 M) au milieu réactionnel, dans la gamme de 0,25-2,00 ml. Les résultats ont montré que, l'absorbance du complexe augmente en fonction de l'augmentation du volume de NaOH jusqu'à une concentration particulière et diminue par la suite (Figure. IV.4). Cela probablement a été attribué à l'augmentation des ions hydroxyde, qui va affecter la réaction de dérivation.

L'absorbance maximale a été trouvée au volume de NaOH de 0,75 ml. Cette valeur a été choisie comme valeur optimale.

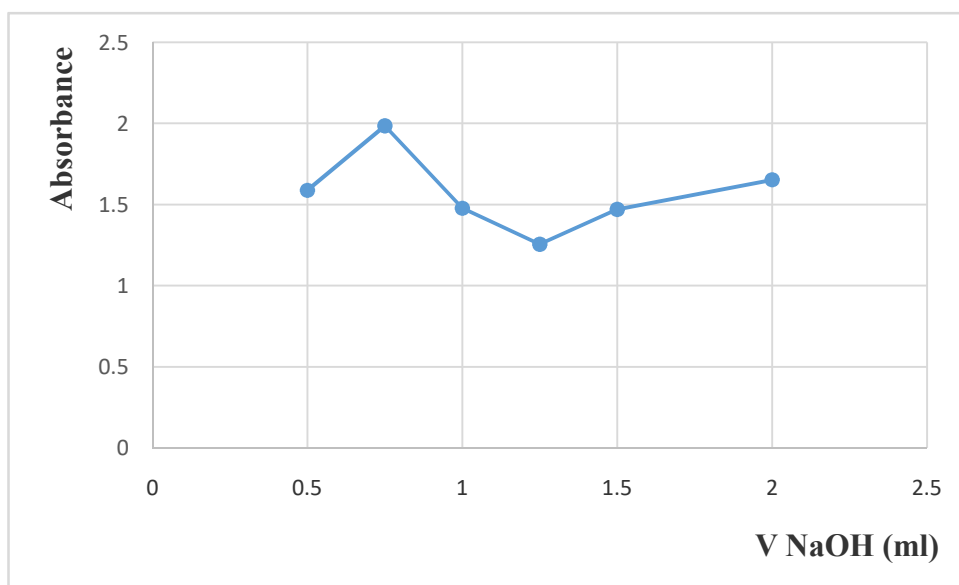


Figure. IV.4 : Influence du milieu alcalin (volumes de NaOH) sur l'absorbance du complexe PA- DHBS-S.

IV.3.4. Influence du temps de réaction

Au aux bons résultats obtenus avec les agents de dérivation de DHBS-S, une étude de l'influence du temps de réaction sur la formation et la stabilité des complexes a été réalisée. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV.5.

Tableau IV.5 : Influence du temps de réaction sur l'absorbance du complexe PA- DHBS-S

Le temps (s)	300	600	900	1200	1500
Abs	1,918	1,9602	1,9725	2,2825	2,3041

La figure IV.5 montre la variation de l'absorbance des complexes en fonction du temps. Dans l'intervalle du temps examiné, une augmentation des valeurs d'absorbance a été observée depuis le début de la réaction jusqu'à une valeur optimale. Après cette période et jusqu'à 25minutes, l'absorbance est restée presque stable avec une variation négligeable. Il a été constaté que la réaction est quantitativement complète, lorsque le mélange réactionnel était laissé pendant 20minutes, et tout retard des mesures jusqu'à 25minutes, n'ont eu aucun effet sur la réaction. Par conséquent, afin de éliminer l'effet du temps et de rendre les méthodes plus rapide, toutes les mesures d'absorbance ont été effectuées après 20 minutes du début de la réaction concernée.

Vu aux ces résultats, les réactions ont été complètes en 20min, en utilisant le DHBS-S (Figure IV.5).

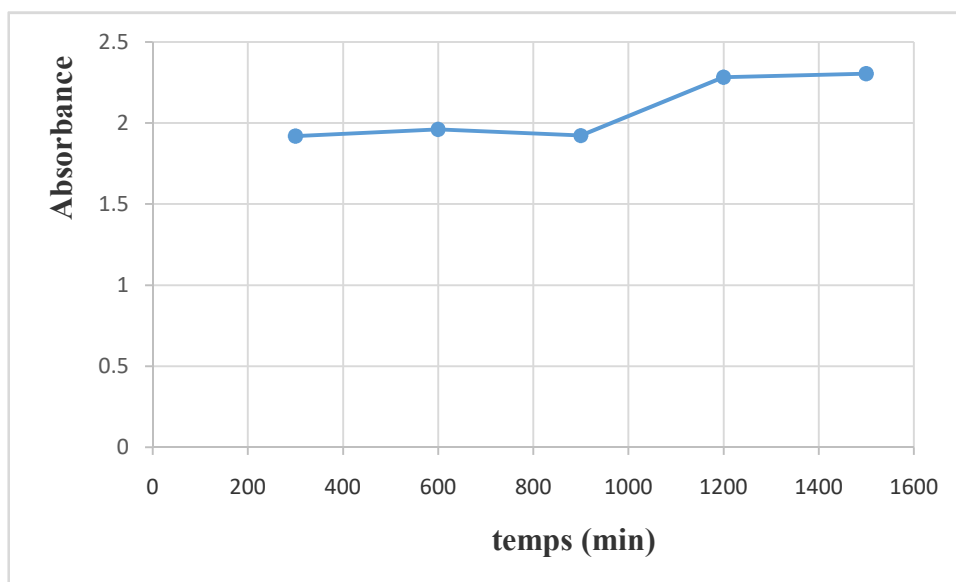


Figure. IV.5 : Influence du temps de réaction sur l'absorbance du complexe PA- DHBS-S

IV.3.5. Influence de la température

Généralement la température joue un rôle important dans les réactions chimiques, elle peut activer ou provoquer le système réactionnel. Les absorbances des complexes formés à différentes températures (25-45 °C), ont été enregistrées, et les résultats sont donnés dans le tableau IV.6.

Tableau IV.6 : Influence de la température sur l'absorbance du complexe PA-DHB-S.

T(C°)	25	30	35	40	45
Abs	2.6231	2.6653	2.0826	1.5658	1.2598

La Figure IV.6 montre la variation de l'absorbance des complexes en fonction de la variation de la température.

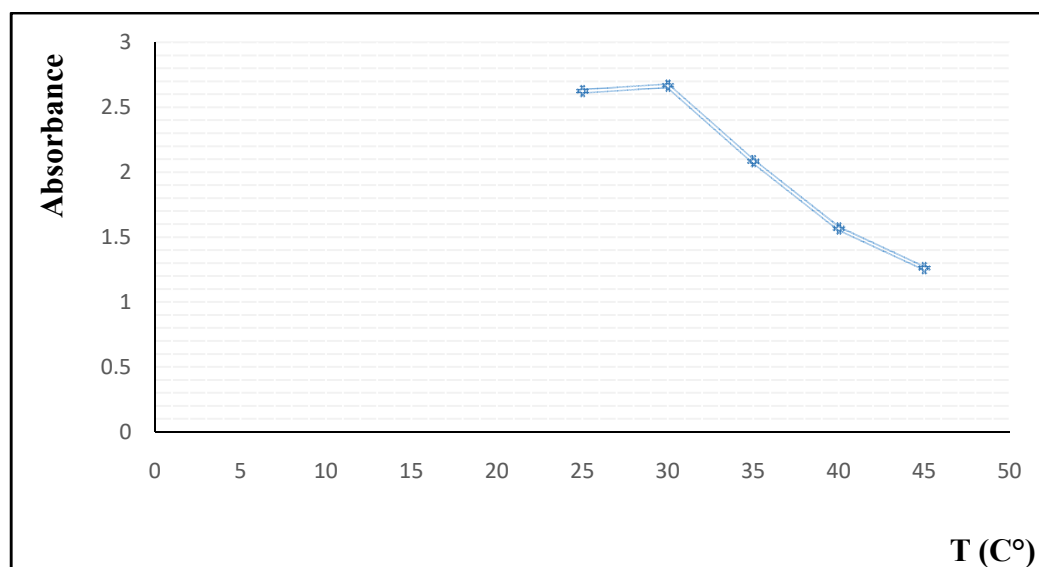


Figure. IV.6 : Influence de la température sur l'absorbance du complexe PA- DHBS-S.

Les résultats des Absorbances maximales de complexe ont révélé que l'augmentation de la température avait un effet limité sur la réaction.

Il a été constaté que les complexes ont été formés instantanément à une température ambiante, et que la réaction n'a pas été affectée par l'augmentant de la température. Ceci est probablement attribué à l'instabilité des complexes de PA- DHBS-S. Par conséquent et au vu des résultats obtenus, notre choix a été fixé à la température (30 °C), comme valeur optimum et plus pratique.

IV.4. Validation de la méthode d'analyse

IV.4.1. Linéarité

Dans les conditions optimales décrites, la courbe d'étalonnage pour la clarithromycine a été construite en traçant l'absorbance de PA-DHBS-S en fonction de la concentration de ce macrolide (Tableau IV.7 et Figure. IV.8).

La conformité de la loi de Béer-Lambert doit être évidente dans la gamme des concentrations étudiées. Les équations de régression, la gamme de concentrations et le coefficient de corrélation ont été reportés dans le tableau IV.7.

D'après ce tableau (IV.7) et la figure IV.8, la loi de la Béer-Lambert était respectée dans la gamme de concentrations de 5-30,0µg/ml. Une corrélation linéaire entre l'absorbance des

complexes formés de PA-DHB-S et la concentration de macrolide a été trouvée, en utilisant la longueur d'onde maximale.

La valeur de coefficient de corrélation était supérieure à 0,9990, indiquant la bonne linéarité de la méthode dans la gamme de concentrations étudiées.

Tableau IV.7 : Linéarité : changement de variables de PA-DHB-S en milieu aqueux.

C (µg/ml)	5	10	20	25	30
Abs	1,6957	1,7649	1,9089	1,9899	2,0652

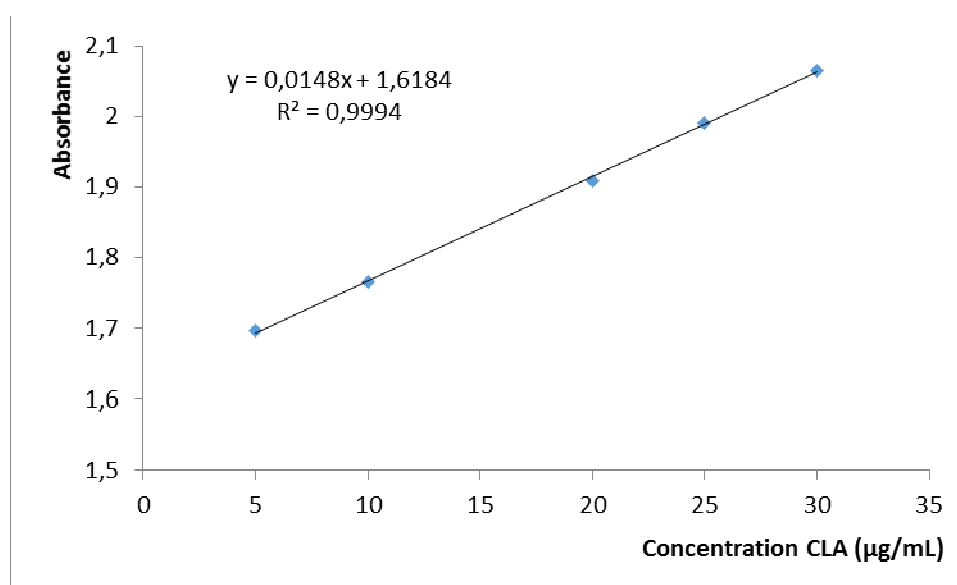


Figure IV.7 : Courbes d'étalonnage du détecteur en milieu aqueux (Clarithromycine).

Tableau IV.8 : Résultats statistiques de l'étude de la linéarité de la clarithromycine par la méthode spectrophotométrie.

Composé	Equation de calibration	r^2
PA-DHB-S	$Y=0,0148x + 1,6184$	0,9994

IV.5. Application à l'analyse de produit pharmaceutique

Tableau IV.9 : Résultats de dosage de clarithromycine (PA) en milieu pharmaceutique (CLARITAL® 500 mg, comprimé), par la méthode spectrophotométrique.

Concentration de CLA ($\mu\text{g/ml}$)	5	20	30
Rendement ρ (%)	96.51	95.83	99.02

Pour montrer la performance de notre méthode spectrophotométrique en milieu pharmaceutique on a choisi de doser la clarithromycine dans un médicament disponible en Algérie sous le nom CLARITAL® - 500 mg. Les résultats de cette étude sont regroupés dans le tableau IV.9.

Comme on peut voir dans ce tableau (IV.9), les résultats obtenus par cette méthode proposée sont concordants avec les valeurs indiquées par les fabricants, et sont également dans les limites autorisées par les pharmacopées et les autres documents de validation.

Des taux de rendement dans l'intervalle de 95,0 à 99,0% ont été obtenus, indiquant que la méthode mise au point est exacte et convenable pour la détermination quantitative de clarithromycine dans le médicament de CLARITAL® - 500mg, sans aucune interférence matricielle, ce qui démontré que notre méthode développée est appropriée pour le contrôle pharmaceutique de ce macrolide.

IV.5. Conclusion

Dans le but de doser la clarithromycine en milieu pharmaceutique, notre recherche a aboutit aux résultats suivants :

En utilisant 2,00 ml de DHBS-S avec un volume d'hydroxyde de sodium (0,2 M) de 0,75 ml, nous avons obtenus des bons résultats en travaillant à une température de 30°C au bout de 20 mn. Les mesures d'absorbance en UV ont été réalisées à 380nm.

Les résultats obtenus à partir de l'analyse en milieu pharmaceutique (CLARITAL®) montre une courbe d'étalonnage linéaire et des bons rendements.

IV.B. Etude électrochimique

IV.6. Introduction

L'étude des propriétés électrochimiques du clarithromycine dans un produit pharmaceutique (CLARITAL®, 500mg) a été effectuée sur la plage de potentiel allant du -0,5 jusqu'au +0,6V/ Ag/AgCl, KCl avec une vitesse de balayage de $0,1 \text{ Vs}^{-1}$ pour la voltammétrie cyclique, et du 0,00 jusqu'au +0,9V/ Ag/AgCl, KCl avec une vitesse de balayage de $0,1 \text{ Vs}^{-1}$ pour la voltammétrie impulsionnelle différentielle.

Les propriétés redox de l'analyte étudié, sur toute l'étendue du domaine d'électro-activité, sont bien déterminées.

IV.7. Voltammétrie cyclique (CV)

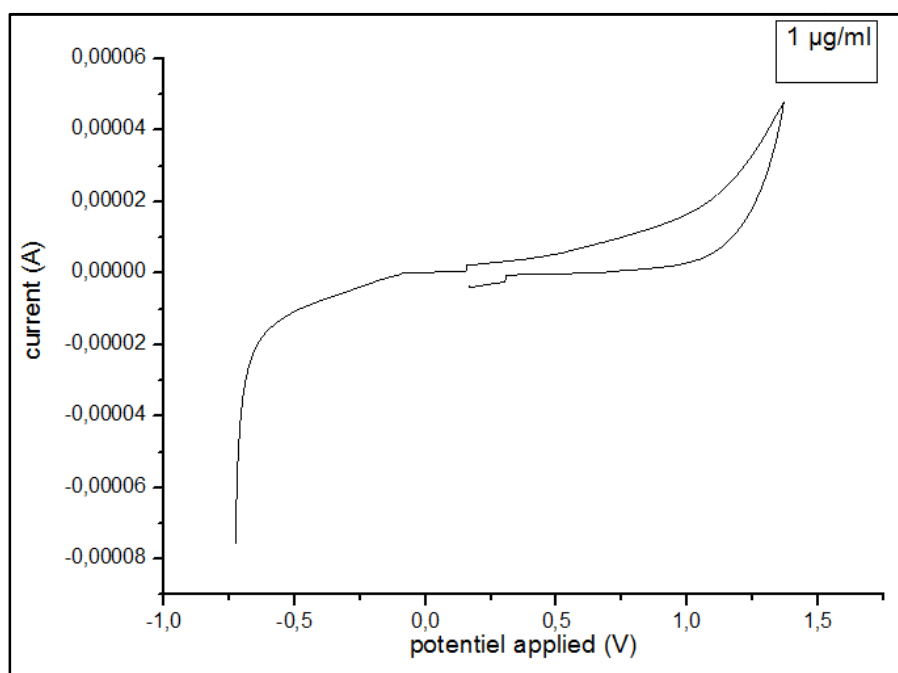


Figure IV.8 : Voltammogramme de clarithromycine ($1 \mu\text{g/ml}$) par CV, sur une électrode de Pt ($\varphi = 3 \text{ mm}$), gamme de potentiel de -0,5 ; +0,6V/Ag/AgCl, KCl, à $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Le voltammogramme obtenu (Figure IV.8) montre l'apparition d'un pic anodique à 0,1813 V/Ag/AgCl, KCl, qui correspond à l'oxydation de clarithromycine, avec une absence de pic cathodique.

Ce qui bien indique que l'oxydation de la clarithromycine sur l'électrode de platine est irréversible.

Des travaux précédents sur alkylesbenzènes ont indiqué que l'oxydation passe par la formation d'un intermédiaire radical cationique, ainsi il semble plus raisonnable que l'oxydation de clarithromycine se produit au niveau du cycle aromatique avec transfert mono-électrique pour donner un radical cationique subit d'une déportation très rapide de la chaîne latérale.

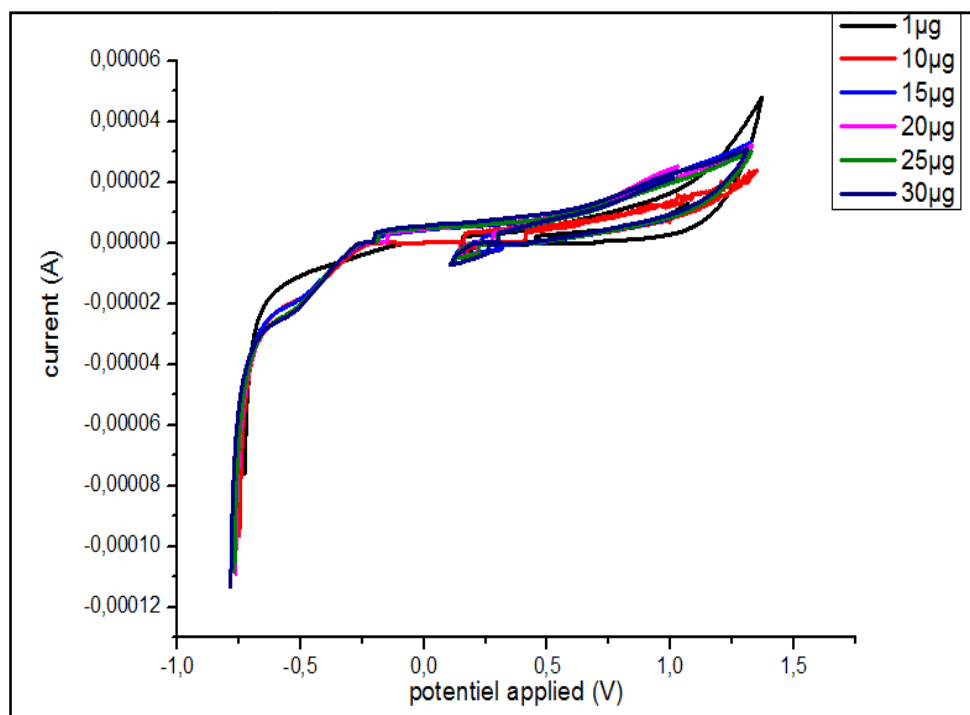


Figure IV.9 : Electrodeposition des CV voltammogrammes de clarithromycine dans une gamme de concentrations de 1-30µg/ml, sur une électrode de Pt ($\varphi = 3$ mm) ; gamme de potentiel de -0,5 ; +0,6V/Ag/AgCl, KCl, à $v = 0,1$ Vs⁻¹.

L'électrodeposition (Figure IV.9) nous a montré que le potentiel anodique diminue avec l'augmentation de la concentration de la clarithromycine.

La concentration en clarithromycine de 30µg/ml est moins conductrice que 1µg/ml, bloquant ainsi plus légèrement l'électrode de platine en diminuant le taux de transfert de charge avec le temps, tant que le processus d'oxydation est contrôlé par la diffusion des espèces électroactives au niveau de la surface d'électrode de travail, donc ça peut expliquer le phénomène.

IV.7. Voltammétrie impulsionnelle différentielle (DPV)

La voltamétrie impulsionnelle différentielle a été utilisée pour la quantification de la clarithromycine dans le produit pharmaceutique CLARITAL®-500mg, car elle donne des voltammogrammes dans lequel les pics sont mieux définis que celles obtenues par voltamétrie cyclique.

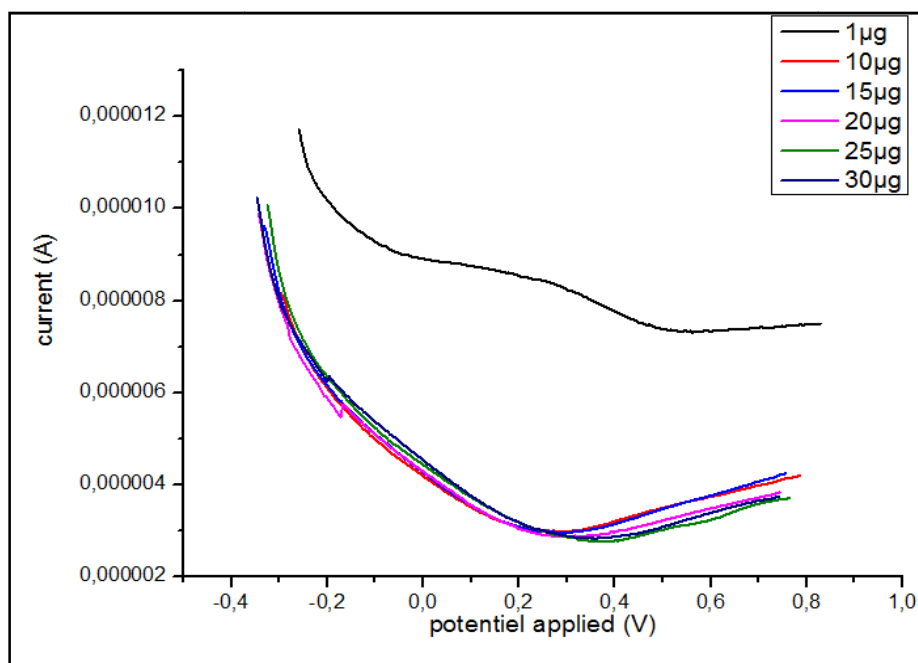


Figure IV.10 : Electrodeposition des DPV voltammogrammes de clarithromycine dans la gamme de concentrations de 1-30 μ g/ml, sur une électrode de Pt ($\phi = 3$ mm) ; gamme de potentiel de -0,00 ; +0,9V/Ag/AgCl, KCl, à $v = 0,1$ Vs⁻¹.

La figure IV.10 montre que dans les conditions optimisées, les courants des pics d'oxydation de la clarithromycine ont diminué linéairement avec l'augmentation de la concentration de CLA dans la gamme de concentrations de 1-30 μ g.

La courbe d'étalonnage a été construite en traçant les valeurs du courant d'oxydation en fonction de la concentration en clarithromycine (Figure IV.11). La méthode électrochimique développée a montré une corrélation linéaire sur une gamme de concentrations de 1-30 μ g, avec une équation de régression de $I_a = 0.0029 c + 0.1474$, avec un coefficient de corrélation de $R^2 = 0,9945$, où c est la concentration de clarithromycine et I_a est le courant d'oxydation.

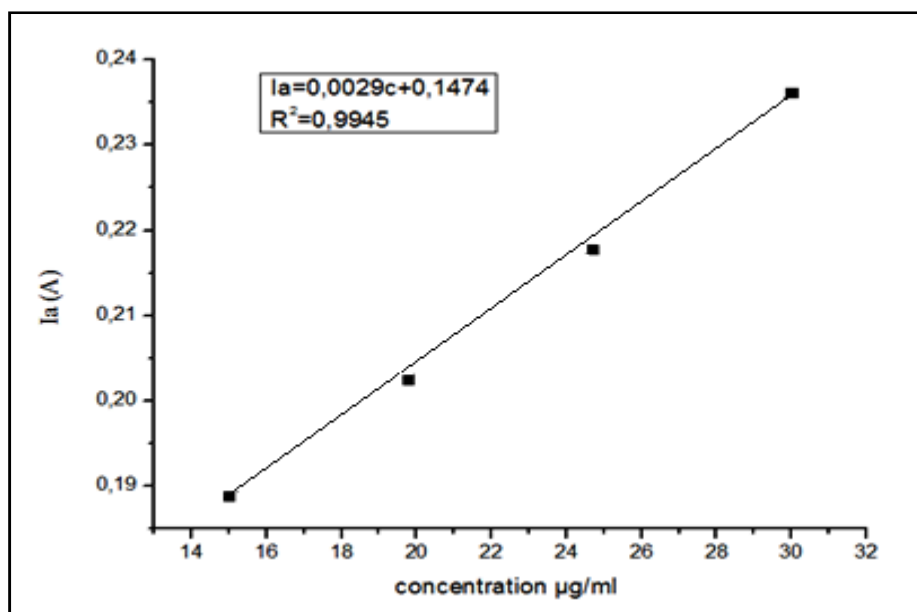


Figure IV.11: Courbe d'étalonnage représente la variation du courant d'oxydation (I_a) en fonction de la concentration de CLA (1-30 $\mu\text{g/ml}$).

IV.8. Application à l'analyse de produit pharmaceutique

Tableau IV.10 : Résultats de dosage de clarithromycine (PA) en milieu pharmaceutique (CLARITAL® 500 mg, comprimé), par la méthode voltamétrique de DPV.

Concentration de CLA ($\mu\text{g/ml}$)	15	20	30
Rendement ρ (%)	93,34	94,57	95,05

Afin d'étudier l'efficacité de notre méthode voltamétrique de DPV pour le dosage de la clarithromycine en milieu pharmaceutique, en utilisant le médicament CLARITAL® - 500 mg, qui est le plus utilisé en Algérie. Les résultats de ce travail sont regroupés dans le tableau IV.10.

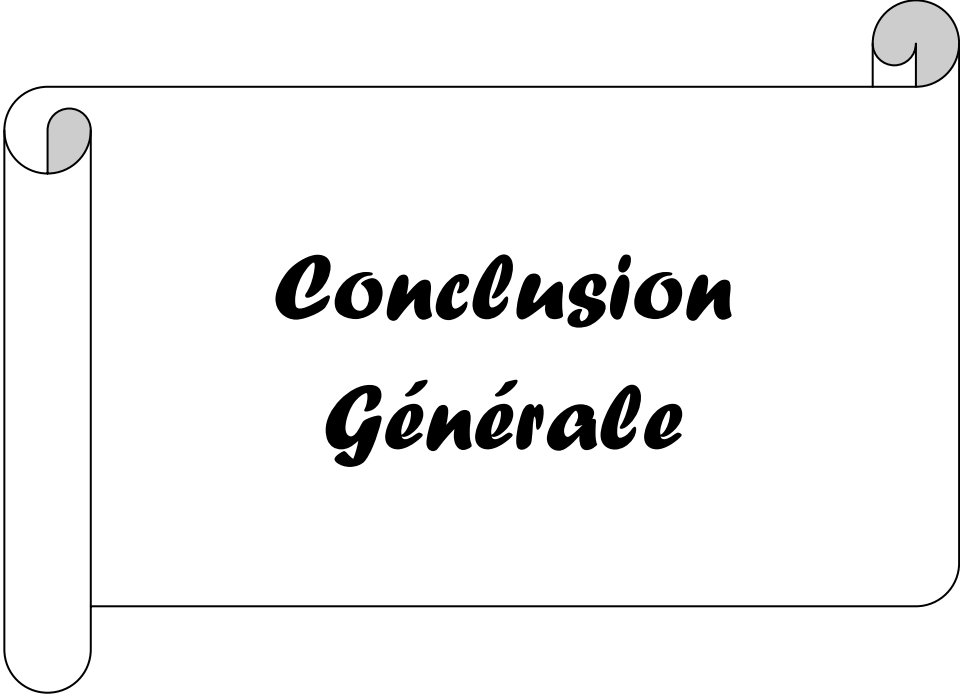
Les rendements des analytes étudiés étaient calculés sur l'intervalle de dosage testé. Vu aux résultats du tableau IV.10, les valeurs obtenues se situaient entre 93,0 et 96,0 % et ont été jugées satisfaisantes. Ceci montre que notre méthode voltamétrique de DPV est performante pour le dosage de la clarithromycine en milieu pharmaceutique.

IV.9. Conclusion et comparaison des méthodes

Les résultats de cette étude montrent que la méthode voltamétrique de DPV est linéaire à des concentrations comprises entre 5 et 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Par conséquent, elle peut être facilement adoptée pour le contrôle de qualité de routine de CLA dans les formes pharmaceutiques.

Les résultats obtenus dans cette étude sont très satisfaisants et a prouvé que le dosage par DPV est une bonne méthode alternative pour l'analyse de notre macrolide en milieu pharmaceutique. C'est un outil analytique très utile comme complément ou substituant des méthodes physico-chimiques traditionnelles (HPLC...). Cependant, la comparaison de cette méthode avec la méthode spectrophotométrique UV montrent que les résultats des rendements sont très comparables.

Le choix final entre les deux méthodes est néanmoins difficile à faire, car les deux dosages répondent aux exigences de sélectivité et d'efficacité pour l'analyse quantitative. Dans l'industrie, la quantification de CLA par la méthode HPLC est précise mais plutôt coûteuse. Par ailleurs, les deux méthodes développées (voltamétrique de DPV et spectrophotométrique UV) utilisent des réactifs et des solvants organiques moins cher.



***Conclusion
Générale***

Conclusion Générale

Dans notre travail, nous nous intéressons au dosage analytique et pharmaceutique d'un médicament à base de l'antibiotique clarithromycine, par une méthode spectrophotométrique UV et deux méthodes électrochimiques.

Premièrement, pour l'étude spectroscopique par UV, l'optimisation de la détection en UV nous a conduits à étudier l'effet de plusieurs paramètres sur la réaction de dérivation chimique entre CLA et DHBS-S. Les valeurs de réponses et les résultats obtenus sont très suffisants. Ces résultats peuvent être résumés dans les points suivants :

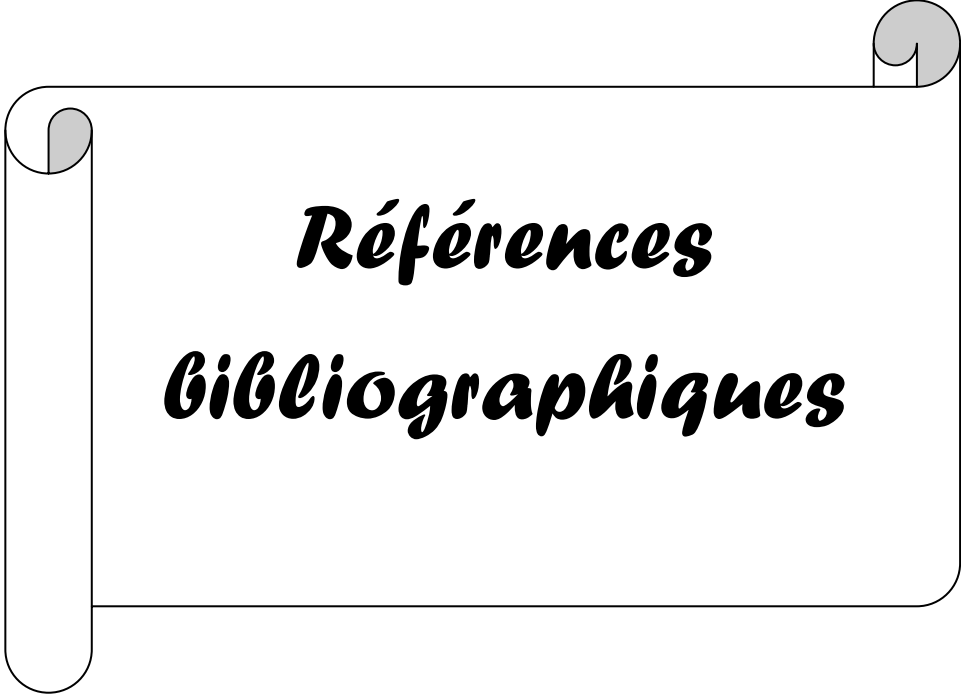
- L'influence du solvant, (l'acétone).
- Le volume du réactif DHB-S, (2ml).
- Le volume d'hydroxyde de sodium NaOH, (0,75ml).
- Le temps (20min).
- La température (30°C).

En deuxième lieu, la voltammétrie cyclique (CV) et la voltamétrie impulsionnelle différentielle (DPV) sont des méthodes d'électroanalyse, qui nous ont fourni des informations variables sur le processus d'interface électrode/solution (la diffusion des espèces électroactives, transfert de charge), ainsi que d'étudier l'influence de la concentration sur le potentiel d'oxydation. Ces deux méthodes nous ont permis de bien définir que notre système est un système irréversible.

En regardant les résultats obtenus, nous constatons que la méthode ultraviolette est efficace, en raison de sa dépendance aux valeurs exactes tirées de l'appareil UV, mais elle est un peu coûteuse. Par contre, les méthodes électrochimiques sont couramment utilisées, en raison de leurs simplicités et de leurs rapidités pour la caractérisation initiale d'un système redox actif. En plus de fournir une estimation du potentiel redox, ces techniques peuvent aussi donner de l'information sur le taux de transfert électronique entre l'électrode et l'analyte, et sur la stabilité de l'analyte dans les états d'oxydation électrolysés.

L'analyse quantitative du principe actif de clarithromycine en milieu pharmaceutique (CLARITAL® - 500mg), est validée en vérifiant le paramètre de la linéaire, qui est le plus important dans l'estimation quantitatif et qualitatif.

En conclusion, nous disons que chaque méthode dépend aux ses caractéristiques qui la distinguent. Donc, on peut dire que les deux méthodes (spectrale par UV et électrochimiques par CV/DPV) sont efficaces pour l'analyse de CLA en milieu pharmaceutique.



***Références
Bibliographiques***

Références bibliographiques

- [1] G. Yim, L'Attaque des superbactéries : Résistance aux antibiotiques. The Science Creative Quarterly, 2011.
- [2] Anonyme, Antibiotique. <http://www.antibiotique.eu/deacutefinition--histoire.html>
- [3] Anonyme, Wikipedia. <https://fr.wikipedia.org/w/index>.
- [4] J-P. Dedet, La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. Dunod, Paris, 2007. p.201.
- [5] LM. Prescott, JP. Harley, DA.Klein, Microbiologie. De Boeck Supérieur ,2003.p.1168.
- [6] L. Michel, Réévaluation des connaissances et représentation des parents d'enfants atteints de viroses saisonnières vis-à-vis de la prescription d'antibiotiques [Thèse]. Université Paris Diderot - Paris 7, 2013.
- [7] D. Mohammadi, Classification et mode d'action des antibiotiques, 2012.
- [8] T. Morghad, Surveillance et connaissance des attitudes et comportements des médecins et autres sur l'usage des antibiotiques et leur résistance. Tlemcen, Université Aboubekr Belkaïd, 2013.
- [9] F. Van Bambeke, S. Pharm, Pharmacologie et Pharmacothérapie anti-infectieuse. Syllabus Natl Belge Pharmacol. 2008. p.1 –134.
- [12] MNS. Kone, Etude de la consommation des antibiotiques, antipaludiques et des analgésiques non morphiniques dans l'unité des urgences du service de pédiatrie du CHU Gabriel TOURE. Université de BAMAKO, 2009.
- [13] A. Bryskier, Antibiotiques et agents antibactériens. Ellipses, Paris, 1999. p.71 -72.
- [14] F. Jehl, M. Chomarat, J. Tankovic, A. Gérard, J. Schrenzel, L. Gutmann, L'antibiogramme à la prescription. Marcy-L'étoile : Bio Mérieux, 2012.
- [15] P. Fosseppez, Antibiothérapie en pratique de ville : Constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance. Nancy, Faculté de Pharmacie, 2013.
- [16] AK. Vuillemin, inventeur nancéien de l'antibiotique. L'Est Républicain. 2011.
- [17] <https://www.researchgate.net/publication/328655727>
- [18] Anonyme, liste- d'antibiotiques, <http://www.antibiotique.eu/liste-dantibiotiques.html>
- [19] Anonyme, Vidal, <http://eurekasante.vidal.fr/medicaments/antibiotiques/familles.html>
- [20] http://thesis.univ-biskra.dz/3424/1/these_Oumhani2008.pdf

- [21] R. Tomasi, Macrolides,
http://untori2.crihan.fr/unspf/2014_Rennes_Tomasi_Macrolides/co/Caracteres_chimiques.htm
1
- [22] <https://www.google.com/search?q=L%27%C3%89rythromycine+est+un+antibiotique>
- [23] <http://fr.fengchengroup.net/pharmaceutical-api/antibiotics/china-erythromycin-base-supplierschina.html>
- [24] <https://www.notretemps.com/sante/l-erythromycine-un-antibiotique-puissant-etpolyvalent,i77690>
- [25] O. Aktouf, Méthodologie des Sciences sociales et approche qualitative des organisations: Une introduction à la démarche classique et une critique, Presses de l'Université du Québec, 1987.
- [26] S. Faure, Bases fondamentales en pharmacologie (science de médicament) ,1ère édition, 2014,p.153.
- [27] N. Boukli-Hacene, Le positionnement stratégique du médicament générique, Etude de cas : Analyse du positionnement du générique auprès du consommateur algérien, Université Abou-bekrbelkaïd, Algérie, 2011, p.173.
- [28] Z. Orphee, Contrôle analytique des médicaments à base d'albendazole et de Mébendazole vendus en République de Guinée - cas de la ville de Conakry, Thèse de doctorat de pharmacie, Université de Ghinia, 2008.
- [29] A. Tiabi, E. Tires, Mise au point et optimisation d'une méthode de dosage d'une forme pharmaceutique suppositoire par l'HPLC, Thèse de doctorat en pharmacie, département de pharmacie, U.M.M.T.O. Algérie, 2014, p.57.
- [30] <https://www.kepro.nl/wp-content/uploads/2014/06/Erythromycin-Thiocyanate>
- [31] M. Talbert G. Willoquet, D. Labayle, Guide pharmaco, Edition Lamare, France, 2001.
- [32] www.larousse.fr/dictionnaires/francais/excipient/31990#KVexdfSwFIItGhhGK. Consulté le10/09/2017
- [33] J-M. Aiche, S. Aiche, R. Renoux, Initiation à la connaissance du médicament, Edition Masson.2011.
- [34] Anonyme, Dictionnaire, www.doctissomo.fr
- [35] Z. Zouant, L'accès aux médicaments en Algérie : une ambiguïté entre des brevets des multinationales et le marché du générique, Thèse de doctorat, Université de Chlef, Algérie, 2013, p. 407.
- [36] Anonyme, Source hamadouche et depret, 2000.

[37] K. Iladjian, Les phases de développement clinique d'un nouveau médicament, Centre d'investigations cliniques, Paris, 2011, p. 79.

[39] <http://www.futura-sciences.com/sante/questions-reponses/divers-medicamentdifferencenomcommercial-nom-generique-3919/>.

[40] <https://www.pharmnet-dz.com/m-817-clarital-800mg-comp-pelli-b-14#>

[41] I. Naranjo Rodriguez, J.L. Hidalgo de Cisneros, Organic analysis in environmental samples by electrochemical methods. Encyclopedia of Analytical Chemistry : Instrumentation and Application. John Sons, United Kingdom, 2000. p.3035-3064.

[42] S. Vogel. Quantitative chemical analysis. Longman Scientific & Technical, 5^{ème} édition 1989.

[43] N. Tiwangye, An overview of electroanalytical methods to trace element speciation in Natural waters. Symposium in Analytical Chemistry, Uganda 1995.

[44] F. Bedioui, Voltampérométrie sur électrode solide : Introduction. Éditions Techniques de l'Ingénieur 1999. P. 2125.

[45] N. Yahiaoui, Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de de Tizi Ouzou, 2012.

[46] S. Ramdani, F. Soltana, Détermination simultanée de L'aluminium et du fer par spectrophotométrie dérivée à l'aide de la méthode Zéro- Crossing, Mémoire d'ingénieur, Université de Bejaia, 2003.

[47] A. Meyer, D. Denier, Spectroscopie pratique dans le domaine du visible et de l'ultraviolet, Bull. Un. Phys. 1996.p. 895 – 908.

[48] A. Benaissa, Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant Synthétique et d'un tensioactif, Thèse doctorat, Université de Constantine, 2011.

[49] <https://studylibfr.com/doc/8911029/republique-algerienne-democratique-et-populaire>

[50] L. Boukemara, étude de l'adsorption des ions phosphate sur Des oxy-hydroxydes cas de l'hydroxyde de fer, Mémoire magister, Université de Constantine, 2009.

[51] J. Voyer, J. Dubard, J. Hameury, J-R. Filtz, Etalonnage en transmission Spectrale de filtres pour lecteur de micro- plaque Elisa, Laboratoire National de Métrologie et d'Essais (LNE), Division Optique, Trappes Cedex, 2011.

[52] B. Tremillon, Electrochimie analytique et réactions en solution. Tome2 Paris, Ed. Masson et Cie.1993.

[53] J.M. Pingarrón, P. Sánchez, Química Electroanalítica, Fundamentos y Aplicaciones. Editorial Síntesis 1999.

[54] R.B. Betrián, Thèse de Doctorat, Nuevos Métodos Electroquímicos

- [55] W.H. Reinmuth, J. Am. Chem. Soc. 1957. p.79- 6358.
- [56] H. Matsuda, Y. Ayabe, Zeit-Elektrochem. 1955. p. 59- 494.
- [57] T. Yamada, T. Osa, T. Matsue, Chem. Lett. 1987. p. 1611.
- [58] J.Y. Lee, T.C. Tan, Electrochem Soc. 1990. p. 137- 1402.
- [59] L.M. Abrantes, J.P. Corriera, J Surf. Coat. Tech. 1998. p. 107- 142.
- [60] R.S. Nicholson, Anal. Chem. 1965.
- [61] F. Bedioui, Voltampérométrie. Théorie et mise en œuvre expérimentale, technique de l'ingénieur, réf : P2126.
- [62] J. Wang, Analytical electrochemistry, 3th Ed., John Wiley and sons, 2006.
- [63] F. Scholz, Electroanalytical methods, 2nd Ed., Springer, 2010.
- [64] M. Christopher, A. Brett, Electrochemistry principles: methods and application, 1993.
- [65] A.M. Brett, C.M. Brett, Electrochemistry principles methods and application, Oxford University Press, Coimbra, 1994.
- [66] A.J. Brad, L.R. Faulkner, Electrochimie principes méthodes et application, 1983.
- [67] P.T. Kissinger, W.R. Heinemann, Laboratory techniques in electroanalytical Chemistry, Marcel Dekker, New York, 1984.

Annexes

Partie de spectrophotométrie UV

Annexe 01 : Solutions utilisées.



Annexe 02 : Influence de la nature du solvant.



Annexe03 : Effet de la concentration du DHBS-S



Annexe 05 : Appareil d'UV-Visible.



Partie d'électrochimie par CV/DPV

Annexe 06 : solution pharmaceutique a différents concentration.



Annexe 07 : cellule électrochimique à trois électrodes.

