



11 bis quai de Turenne
44000 Nantes
02 40 20 33 20

Site internet : www.cours-galien.fr



"Le hasard ne favorise que les esprits préparés" Louis Pasteur

NOM :

VILLE :

Prénom :

Note sur : / 40

INTERNAT PHARMACIE

EXERCICE N°2

40 POINTS

Date : Samedi 22 Juillet 2006 & Dimanche 23 Juillet 2006



Exercice n°2

- 1 -



Une poudre pharmaceutique est composée de plusieurs principes actifs et d'excipients solubles dans l'eau quel que soit le pH.

On souhaite doser par HPLC l'un de ces principes actifs M qui est un mono chlorhydrate d'amine de masse moléculaire 200 et de pKa 8.

Pour cela, il s'avère nécessaire après solubilisation des différents principes actifs dans une solution aqueuse de réaliser une extraction préalable par un solvant organique pour éliminer les interférences.

Afin de déterminer le nombre d'extractions à effectuer pour récupérer la totalité de M en phase organique, on mesure son coefficient de partage.

Question n°1 : Quelle est la définition du coefficient de partage ? Quelle est la différence avec le coefficient de distribution ?

On procède alors de la façon suivante : dans une fiole jaugée de 100 mL, on dissout 0,02g de M dans environ 60 mL d'eau distillée. On ajoute 10 mL de soude 0,1 M et on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée.

On agite 50 mL de cette solution avec 20 mL de chloroforme.

Question n°2 : Quel est l'intérêt de l'addition de soude ?

Après obtention de l'équilibre de partage, l'absorbance de la phase aqueuse mesurée à la λ_{\max} du soluté est de 0,8.

Le coefficient d'absorption molaire de M mesuré à cette même longueur d'onde, a pour valeur $4000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$

Question n°3 : Quelle est la valeur de la concentration molaire de M en phase aqueuse après partage ?
Quelle est la valeur du coefficient de partage ?



Question n°4 : Combien d'extractions sera-t-il nécessaire de pratiquer au minimum dans les mêmes conditions pour qu'il reste moins de 1% de M en phase aqueuse ?



Ces essais préalables ayant été réalisés, on effectue le dosage de M par HPLC sur une colonne C18 en opérant par étalonnage interne.

L'étalon interne choisi E est un autre chlorhydrate d'amine dont les constantes physico-chimiques (pKa, coefficient de partage eau-chloroforme) sont proches de celles de M.

Question n°6 : Quel est l'intérêt d'utiliser une méthode d'étalonnage interne pour ce dosage ?

Pour effectuer le dosage, on dissout 0,5g de poudre à analyser dans 100mL d'eau alcalinisée par 10mL de soude 0,1M comme précédemment.

On prélève 50mL de cette solution, on ajoute 0,2mL de solution aqueuse 10^{-3} M de E et on extrait par 20mL de chloroforme.

On répète l'opération autant de fois que nécessaire pour obtenir une extraction complète de M et E.

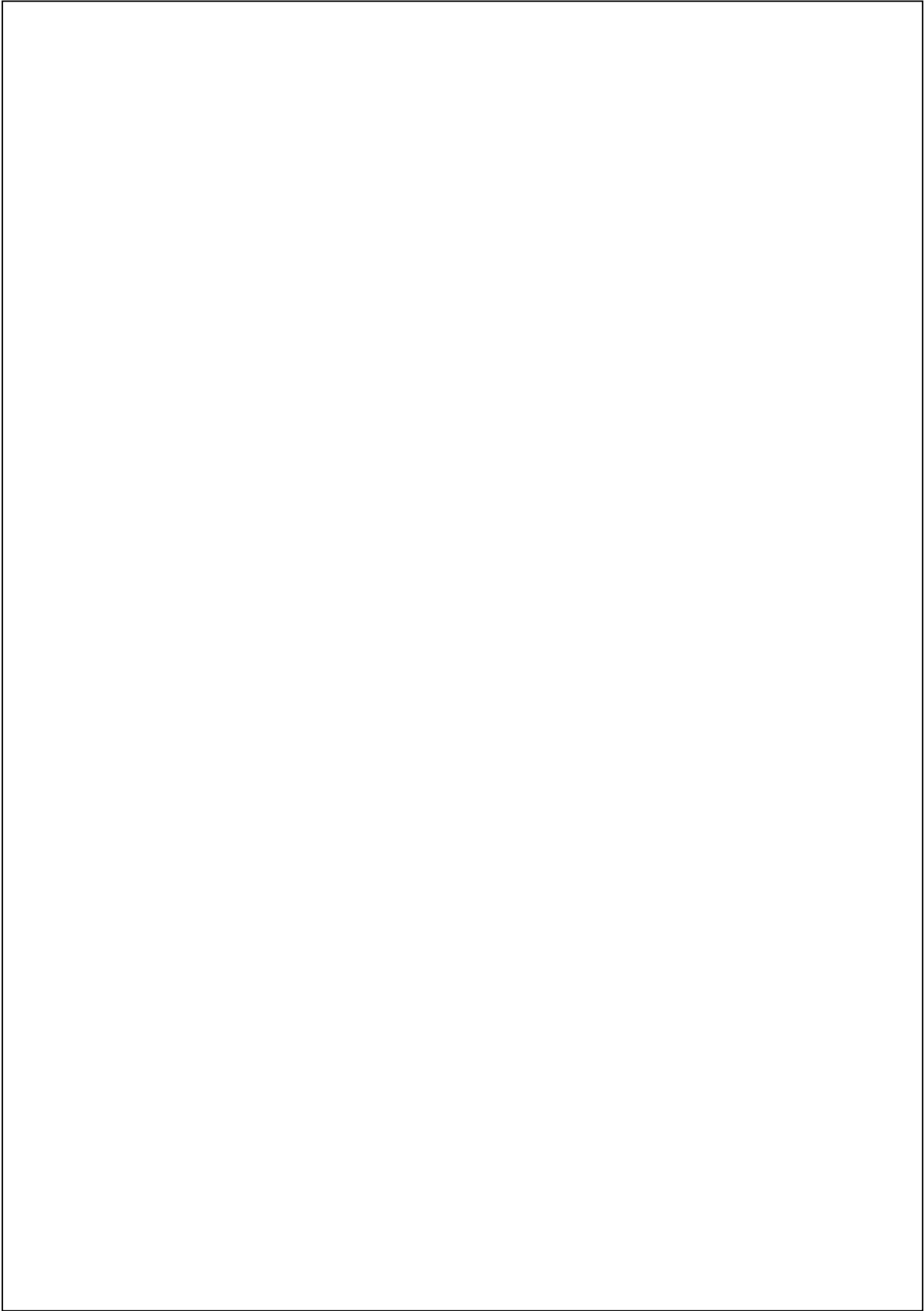
On réunit les phases organiques et on évapore à sec au moyen d'un évaporateur rotatif.

Le résidu est dissout dans 10mL de phase mobile et on injecte 20 μ L de cette solution X dans le chromatographe. Les aires trouvées pour les 2 pics sont respectivement 242460 unités de surface pour M et 250000 pour E.

On réalise un étalonnage en injectant 20 μ L d'une solution préparée en dissolvant 0,01g de M dans 50mL de phase mobile contenant 1mL de solution 10^{-3} M de E. Les aires obtenues pour les 2 pics sont 303075 pour M et 312500 pour E.

Question n°7 : Quelle est la teneur en M de la poudre à analyser (en g%) ?







11 bis quai de Turenne
44000 Nantes
02 40 20 33 20

Site internet : www.cours-galien.fr



"Le hasard ne favorise que les esprits préparés" Louis Pasteur

CORRECTION

INTERNAT PHARMACIE

EXERCICE N°2

CHIMIE ANALYTIQUE

Date : Samedi 22 Juillet 2006 & Dimanche 23 Juillet 2006



Exercice n°2

- 1 -



Une poudre pharmaceutique est composée de plusieurs principes actifs et d'excipients solubles dans l'eau quel que soit le pH.

On souhaite doser par HPLC l'un de ces principes actifs M qui est un mono chlorhydrate d'amine de masse moléculaire 200 et de pKa 8.

Pour cela, il s'avère nécessaire après solubilisation des différents principes actifs dans une solution aqueuse de réaliser une extraction préalable par un solvant organique pour éliminer les interférences.

Afin de déterminer le nombre d'extractions à effectuer pour récupérer la totalité de M en phase organique, on mesure son coefficient de partage.

Question n°1 : Quelle est la définition du coefficient de partage ? Quelle est la différence avec le coefficient de distribution ?

Le coefficient de partage correspond à l'affinité d'une molécule entre une phase organique et une phase aqueuse :

$$\lambda = [C]_{\text{org}} / [C]_{\text{aq}}$$

Le coefficient de distribution ou coefficient de partage apparent représente ce même coefficient lorsqu'une espèce présente des propriétés acido-basiques ou complexométriques :

$$D = \lambda_{\text{app}} = \frac{\sum [C]_{\text{org}}}{\sum [C]_{\text{aq}}}$$

On procède alors de la façon suivante : dans une fiole jaugée de 100 mL, on dissout 0,02g de M dans environ 60 mL d'eau distillée. On ajoute 10 mL de soude 0,1 M et on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée.

On agite 50 mL de cette solution avec 20 mL de chloroforme.

Question n°2 : Quel est l'intérêt de l'addition de soude ?

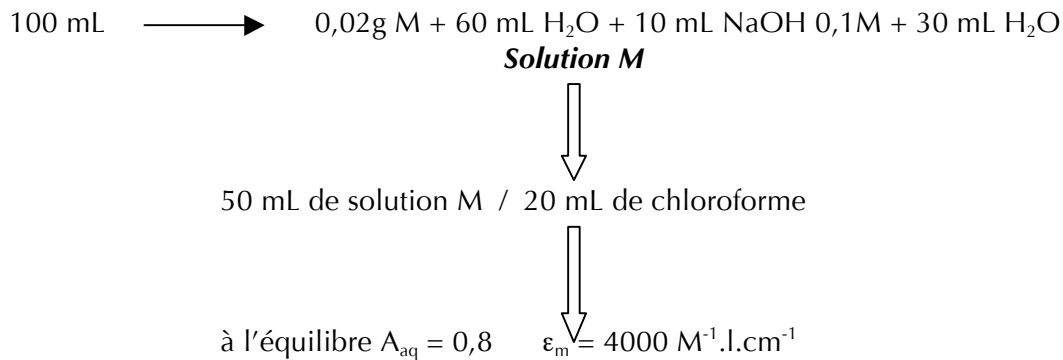
M est un monochlorhydrate d'amine ($R-NH_3^+Cl^-$) ainsi à $pH > pK_a = 8$, tout M sera transformé sous forme $R-NH_2$. La soude permet donc d'augmenter le pH de la solution aqueuse avec formation de la forme non ionisée de M permettant une extraction optimale par la phase organique.

Après obtention de l'équilibre de partage, l'absorbance de la phase aqueuse mesurée à la λ_{max} du soluté est de 0,8.

Le coefficient d'absorption molaire de M mesuré à cette même longueur d'onde, a pour valeur $4000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$



Question n°3 : Quelle est la valeur de la concentration molaire de M en phase aqueuse après partage ?
Quelle est la valeur du coefficient de partage ?



Déterminons [M]_{aq} après partage :

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C \quad \text{d'où} \quad [M]_{aq} = A / \epsilon \cdot l = 0,8 / (4000 \times 1) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Déterminons la valeur du coefficient de partage :

- Déterminons la quantité de M initiale =
 $n = m / M = 0,02 / 200 = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$
 d'où $[M]_{init} = 1 \cdot 10^{-4} / 100 \cdot 10^{-3} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- Dans les 50 mL de solution M, la quantité du principe actif M est =
 $n_M = 1 \cdot 10^{-3} \times 50 \cdot 10^{-3} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$
- Dans les 50 mL de phase aqueuse après équilibre, on a =
 $n_{Maq} = [M]_{aq} \times V_{aq} = 2 \cdot 10^{-4} \times 50 \cdot 10^{-3} = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$
- La quantité de M passée dans la phase organique est donc de :
 $\Delta n = n_M - n_{Maq} = 5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-5} = 4 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$
 d'où $[M]_{org} = \Delta n / V_{org} = 4 \cdot 10^{-5} / 20 \cdot 10^{-3} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

On a donc : $\lambda = [M]_{org} / [M]_{aq} = 2 \cdot 10^{-3} / 2 \cdot 10^{-4}$

$$\lambda = 10$$



Question n°4 : Combien d'extractions sera-t-il nécessaire de pratiquer au minimum dans les mêmes conditions pour qu'il reste moins de 1% de M en phase aqueuse ?

$$\rho = Q_{\text{org}} / Q_0 = 99 / 100 = 0,99$$

$$\rho = Q_{\text{org}} / (Q_{\text{org}} + Q_{\text{aq}}) \Leftrightarrow 1 - \rho = 1 - (Q_{\text{org}} / (Q_{\text{org}} + Q_{\text{aq}}))$$

$$\Leftrightarrow 1 - \rho = Q_{\text{aq}} / (Q_{\text{org}} + Q_{\text{aq}})$$

$$\text{d'où } 1 - \rho = 1 / (1 + (Q_{\text{org}} / Q_{\text{aq}})) \Leftrightarrow \rho = 1 - (1 / (1 + (C_{\text{org}} \cdot V_{\text{org}} / C_{\text{aq}} \cdot V_{\text{aq}})))$$

$$\Leftrightarrow \rho = 1 - (1 / (1 + ((V_{\text{org}} / V_{\text{aq}}) \cdot \lambda)))$$

Pour n extractions, on peut écrire que $\rho_n = 1 - (1 / (1 + ((V_{\text{org}} / V_{\text{aq}}) \cdot \lambda))^n)$

$$\text{Donc } 1 - \rho_n = 1 / (1 + ((V_{\text{org}} / V_{\text{aq}}) \cdot \lambda))^n$$

$$(1 + ((V_{\text{org}} / V_{\text{aq}}) \cdot \lambda))^n = 1 / (1 - \rho_n)$$

$$\text{Log}[(1 + ((V_{\text{org}} / V_{\text{aq}}) \cdot \lambda))^n] = \text{Log}[1 / (1 - \rho_n)]$$

$$n \cdot \text{Log}[(1 + ((V_{\text{org}} / V_{\text{aq}}) \cdot \lambda))] = \text{Log}[1 / (1 - \rho_n)]$$

$$n = \text{Log}[1 / (1 - \rho_n)] / \text{Log}[(1 + ((V_{\text{org}} / V_{\text{aq}}) \cdot \lambda))]$$

$$n = \text{Log}[1 / (1 - 0,99)] / \text{Log}[1 + ((20/50) \cdot 10)]$$

$$n = 2,86$$

Il faudra au minimum 3 extractions pour obtenir le rendement souhaité



Ces essais préalables ayant été réalisés, on effectue le dosage de M par HPLC sur une colonne C18 en opérant par étalonnage interne.

L'étalon interne choisi E est un autre chlorhydrate d'amine dont les constantes physico-chimiques (pKa, coefficient de partage eau-chloroforme) sont proches de celles de M.

Question n°6 : Quel est l'intérêt d'utiliser une méthode d'étalonnage interne pour ce dosage ?

L'étalonnage interne permet d'obtenir la meilleure précision possible pour une chromatographie quantitative (le dosage d'une molécule).

Il permet de minimiser les incertitudes et donc les sources d'erreurs provenant des volumes d'injection des échantillons, de la vitesse d'écoulement et des variations d'état de la colonne.

Pour effectuer le dosage, on dissout 0,5g de poudre à analyser dans 100mL d'eau alcalinisée par 10mL de soude 0,1M comme précédemment.

On prélève 50mL de cette solution, on ajoute 0,2mL de solution aqueuse 10^{-3} M de E et on extrait par 20mL de chloroforme.

On répète l'opération autant de fois que nécessaire pour obtenir une extraction complète de M et E.

On réunit les phases organiques et on évapore à sec au moyen d'un évaporateur rotatif.

Le résidu est dissout dans 10mL de phase mobile et on injecte 20 μ L de cette solution X dans le chromatographe. Les aires trouvées pour les 2 pics sont respectivement 242460 unités de surface pour M et 250000 pour E.

On réalise un étalonnage en injectant 20 μ L d'une solution préparée en dissolvant 0,01g de M dans 50mL de phase mobile contenant 1mL de solution 10^{-3} M de E. Les aires obtenues pour les 2 pics sont 303075 pour M et 312500 pour E.



Question n°7 : Quelle est la teneur en M de la poudre à analyser (en g%) ?

- Déterminons les concentrations de M dans la solution d'étalonnage

$$\rightarrow C_M' = 0,01 / 50 \cdot 10^{-3} = 0,2 \text{ g.L}^{-1} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$$

Il s'agit d'un dosage par étalonnage interne donc :

$$C_X / (S_M / S_{EX}) = C_M' / (S_M' / S_E')$$

$$\text{D'où } C_X = C_M' \cdot (S_E' / S_M') \cdot (S_M / S_{EX})$$

$$C_X = 1 \cdot 10^{-3} \times (312500 / 303075) \times (242460 / 250000)$$

$$C_X = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1} = 0,2 \text{ g.L}^{-1}$$

- La teneur de la poudre en M est donc de :

La quantité de molécule M dosée est : $m_M = 0,2 \times 10 \cdot 10^{-3} = 2 \text{ mg}$

C'est la quantité de M présente dans les 10 mL de phase mobile donc la quantité récupérée par l'extraction.

Or l'extraction est effectuée sur 50 mL de la solution aqueuse de départ obtenue par mélange de 0,5g de poudre avec 100 mL d'eau (+ soude).

On peut donc écrire que : $m_{M \text{ initial}} = 2 \times m_M = 4 \text{ mg}$

$$\text{D'où } T_M = (m_{M \text{ initial}} / m_0) \times 100 = (0,004 / 0,5) \times 100$$

$$T_M = 0,8 \%$$

