

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Ecole Normale Supérieure. Kouba. Alger

Département de Chimie

MEMOIRE

En vue de l'obtention du grade de

Magister en Chimie

Option : Chimie Organique Appliquée

Par : BENZAOUI THOURIA

**Développement d'une méthode chromatographique pour le suivi
de la stabilité des vitamines liposolubles à l'intérieur d'une poche
de sérum**

Présenté publiquement le 04 novembre 2007 devant le jury composé de :

Mr	A. SELATNIA	Professeur à l'ENP	Président
Mme	A. HASSANI	Professeur à l'ENS	Examineur
Mr	S. ZERKOUT	Maître de conférences à l'ENS	Examineur
Mr	S. HAZZI	Chargé de cours à l'ENS	Examineur
Mr	M. ZOUIKRI	Maître de conférences à l'UB	Promoteur
Mr	M-S BOUKHECHEM	Chargé de cours à l'ENS	Co-promoteur

Année universitaire 2006 / 2007

Table des matières

Introduction générale	1
------------------------------------	---

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la chromatographie

I-1) Principe de base de la chromatographie liquide à haute performance	4
I-2)Appareillage.....	5
I-3) Classes de chromatographie.....	7
I-4) Choix de la méthode de séparation :	8
I-4-1) Domaine de la masse moléculaire	8
I-4-2) Solubilité et polarité	8
I-4-3) Structure chimique.....	8
I-5) Analyse qualitative	10
I-5-1) Temps de rétention	10
I-5-2) Sélectivité	10
I-5-3) Efficacité de la colonne.....	11
I-5-4) Résolution.....	11
I-6) Analyse quantitative.....	13
I-7) Validation d'une méthode chromatographique	13
I-7-1) Sélectivité et spécificité	13
I-7-2) Stabilité	13
I-7-4) Sensibilité	14
I-7-5) Exactitude et précision	14
I-7-6) Répétabilité	14
I-7-8) Reproductibilité	15

Chapitre II : Les solutés de perfusion

II-1)Historique.....	15
II-2) Avantages et propriétés des perfusions	16
II-3) Types et composition des sérums	16
II-3- 1) Sérum salé :.....	16
II-3-2) Sérum glucosé à 5 % :.....	16
II-3-3) Intralipide :.....	17

Chapitre III : Les contenants des perfusions :

III-1) Evolution des contenants de perfusion	17
III-2) Composition des matières plastiques utilisées pour la fabrication des poches de sérum.....	17
III-3-a) Principaux polymères utilisés	
III-3-a-1) Polyéthylène.....	18
III-3-a-2) Polypropylène :.....	18

III-3-a-3) Chlorure de polyvinyle (polyvinyl chloride :PVC)	18
III-3-a-4) Polyamide	18
III-3-b) principaux adjuvants utilisés	19
III-3-b-1) Les plastifiants.....	19
III-3-b - 2) Les stabilisants :.....	19
III-3-b-3) Les lubrifiants.....	19

Chapitre IV : Problèmes d'interaction plastique médicament :

IV-1) perméabilité	19
IV-2) sorption :	20
IV-3) infiltration	20

Chapitre V : Notions générales sur les vitamines liposolubles utilisées :

V-1) Vitamine E	
V-1-1) Présentation.....	21
V-1-2) Sources alimentaires	21
V-1-3) Propriétés thérapeutiques	22
V-1-4) Propriétés physico-chimiques	22
V-2) Vitamine K	
V-2 -1)Présentation :	23
V-2-2) Source alimentaire	24
V-2-3) Propriétés thérapeutiques	24
V-2-4) Propriétés physico-chimiques	24
V-3) Vitamine D	
V-3-1) Présentation.....	25
V-3 -2) Source alimentaire	26
V-3-3) Propriétés thérapeutiques	26
V-3-4) Propriétés physico-chimiques	26

Chapitre VI : Travail antécédent sur les vitamine D,K et E..... 28

Deuxième Partie : Etude expérimentale

I : Introduction	37
I-1) Matériel et méthode.....	38
II) développement de la méthode chromatographique.....	39
II-1-1) choix de la composition de la phase mobile	39
II-1-2) Choix du débit de la phase mobile	39
II-1-3) Choix de la longueur d'onde d'absorption.....	40
II-1-4) Choix de la phase stationnaire	40
II-1-5) Choix de la température de la colonne	40
II-2) Résultats et discussion.....	40
II-3 Conclusion.....	60

III : Validation de la méthode d'analyse des vitamines liposolubles :	
III-1) Sélectivité	62
III-2)Stabilité	63
III-3) Linéarité	63
III-4) Répétabilité.....	68
III-5) reproductibilité.....	69
III-6) Précision et Exactitude	69
III-7) Limite de détection et limite de quantification	71
IV) : Essai de stabilité des vitamines liposolubles	
IV-1)Introduction	73
IV-2) Test de stabilité :	
•) Influence de la température.....	73
•) Influence de la lumière du jour	77
•) Influence de l'oxygène de l'air	80
•) Influence de l'acidité et de la basicité	83
•) Conclusion	86
V) : Application à l'étude de la stabilité des vitamines à l'intérieur de poches de perfusion	
V-1) Introduction.....	87
V-2) Validité de la méthode analytique pour l'étude des vitamines liposolubles dans l'intralipide	
•) Sélectivité :.....	85
•) linéarité :	86
•) Limite de détection et de quantification	88
•) Répétabilité :	88
•) Reproductibilité	89
V-3) Validité da la méthode analytique pour l'étude des vitamines liposolubles dans une poche de sérum salé.....	90
•) Sélectivité :.....	90
•) linéarité :	91
•) Limite de détection et de quantification	93
•) Répétabilité :	93
•) Reproductibilité	94
VI :Stabilité des vitamines liposolubles dans les poches de perfusion	95
VI-1) Etude de la stabilité des vitamines dans différents milieux	
•) En milieu inerte à l'abri de la lumière et à température ambiante :.....	96
•) En milieu inerte à l'abri de la lumière et à température de 32°C	96
•) En milieu inerte à température ambiante exposé à la lumière du jour	96
VI-2) Etude de la stabilité des vitamines dans les solutions de perfusions	
•) A l'abri de la lumière et à température ambiante	97
•) A l'abri de la lumière et à une température élevée.....	97

•) A température ambiante en présence de la lumière du jour.....	97
•) Résultats et discussion	97
•) Conclusion.....	105
Conclusion générale	106
.	
Bibliographie	107

INTRODUCTION GENERALE

C'est en 1831, quand Thomas Latta a administré à ses patients atteints de choléra une eau additionnée de chlorure, pour compenser les pertes subies par leurs organismes, était l'avènement de l'administration des médicaments par voie de perfusion, et depuis cette nouvelle technique de traitement a connu une grande évolution, pour devenir aujourd'hui d'une utilisation très répandue.

Si ce mode d'administration de médicaments est de nos jours très utilisé, c'est parce qu'il présente plusieurs avantages, surtout sur le plan thérapeutique. En effet ce mode assure une rapidité d'action, évite les effets indésirables des médicaments sur le système digestif, tout en évitant au médicament même, le risque d'une attaque par les systèmes enzymatiques digestifs, aussi les perfusions restent le seul moyen de secours dans le cas où la nutrition ou le traitement par voie orale devient impossible.

Malgré tous ces atouts, le traitement par voie de perfusion ne peut être utilisé qu'avec une grande précaution, le problème majeur qu'il présente réside dans le choix du contenant de la solution de perfusion. Le contenant doit non seulement assurer au contenu une parfaite protection du milieu extérieur, mais aussi et surtout lui éviter le grand risque d'une interaction contenu-contenant. Ce phénomène est souvent observé dans le cas des contenants en plastiques, surtout quand la solution de perfusion est lipophile, il en résulte une perte d'une partie du principe actif qui au lieu d'être administrée au patient, s'adsorbe sur les parois du contenant, le patient est aussi exposé au risque de migration de certains produits chimiques, qui entrent dans la composition du contenant, vers le contenu et donc leur passage dans le sang, ce qui peut provoquer de nouvelles maladies.

Parmi les nombreux médicaments administrés par voie de perfusion, on cite les vitamines liposolubles, (vitamines A, K, D et E) qui sont d'une très grande importance pour le corps humain, une carence de l'une de ces vitamines engendre de sérieux problèmes de santé, dans ce cas un apport par voie de perfusion peut être fait. Ces vitamines seront donc injectées dans une solution de perfusion de sérum salé ou glucosé sinon, et dans plusieurs cas, dans une solution d'intralipide et administrées directement au patient. Le caractère lipophile de ces produits risque de favoriser les interactions contenu-contenant et de rendre l'action de perfusion non sécurisée.

Pour toutes ces raisons, on s'est proposé, dans ce présent travail, de suivre le comportement de ces médicaments à l'intérieur d'une poche de sérum, pour cela, il était nécessaire de disposer d'une méthode analytique performante, qui permet de détecter la moindre dégradation du principe actif.

Notre choix s'est porté sur la technique de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) , répondant parfaitement aux besoins de cette étude,c'est une technique rapide , sensible , sélective et dont les résultats peuvent être quantifiés.

Afin de réaliser cette étude on a exposé des généralités sur la chromatographie liquide à haute performance ,un aperçu sur les solutés de perfusions et leurs contenants , sur les médicaments utilisés (vitamines D, K et E) , leurs sources alimentaires , leurs propriétés thérapeutiques , ainsi que leurs propriétés physico – chimiques , cette partie bibliographique s'achève par une présentation des méthodes d'analyse des vitamines étudiées

La partie réservée au travail expérimental est répartie comme suit :

Une première étape consiste en le développement d'une méthode chromatographique pour la détection simultanée des trois vitamines D, K et E , dans cette étape le choix des conditions opératoires optimales de détection et de séparation de ces produits est étudié .

La seconde étape concerne la validation de la méthode chromatographique développée, cette validation est basée sur plusieurs critères : la sélectivité, répétabilité, reproductibilité, stabilité et linéarité.

Nous avons appliqué cette méthode à l'étude de la dégradation des vitamines sous l'influence de l'oxygène de l'air, de la lumière du jour, de la chaleur et l'action des acides et bases, et on a pu montrer que la méthode d'analyse développée permet de détecter la dégradation de ces produits.

Après avoir développé et validé la méthode d'analyse chromatographique des vitamines D, K et E, on s'est proposé de l'appliquer au suivi de stabilité des médicaments à l'intérieur d'une poche de perfusion , pour cela on a d'abord examiné la validité de la méthode d'analyse des vitamines dans les nouveaux milieux pharmaceutiques à savoir l'intralipide et le sérum salé,par la suite la méthode d'analyse a été appliquée pour le suivi chromatographique de la stabilité des vitamines dans les poches de perfusions d'intralipide et de sérum salé sous différentes conditions de lumière et de chaleur ,on a comparé chaque poche de sérum à un contenant en verre supposé inerte aux réactions contenu –contenant.