



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°1

40 POINTS

Date : Samedi 21 mars 2009 & Dimanche 22 mars 2009



Exercice n°1

- 1 -



Le dosage d'un médicament S à partir du plasma est effectué par chromatographie HPLC avec détection UV à 254 nm.

L'extraction est réalisée avec 5 ml d'acétate d'éthyle.

Après mélange et décantation, le solvant organique est isolé puis évaporé. Le résidu est reconstitué avec 300 μ l de phase mobile puis lavé à l'hexane.

Enfin, 100 μ l sont injectés dans la colonne chromatographique.

1. Après une première injection, vous mesurez la largeur du pic à la base $\omega = 15$ secondes (s). En sachant que la hauteur d'un plateau théorique est de 7,9 μ m et que la colonne présente un nombre de plateau de 6327, quelle est la longueur de la colonne utilisée ?

2. Vous décidez d'utiliser un étalon interne pour un maximum de précision.

Vous disposez de 3 composés de la même famille que la molécule à doser :

- | | | | |
|-----|-------------|-----------------|-----------------------------------|
| - A | tr = 8 min | $\omega = 30$ s | insoluble dans l'acétate d'éthyle |
| - B | tr = 12 min | $\omega = 30$ s | n'absorbe que dans le visible |
| - C | tr = 8 min | $\omega = 30$ s | absorbe à 254 nm |

Quelle molécule utilisez-vous, expliquer ? (tr : temps de rétention)

L'extraction est réalisée sur 0,5 mL de solution S plus 0,5 mL de solution étalon EI. Les mesures effectuées



donnent une hauteur de pic à 27 ua (unité arbitraire) pour S et 35 ua pour l'étalon interne. Le pic de front de solvant sort à 1,6 min et à 10 min pour S. une gamme permet de déterminer la droite du rapport des hauteurs de pic en fonction des concentrations :

$$H \text{ pic S} / H \text{ pic EI} = 0,192 \times \text{concentration en } \mu\text{g/mL}$$

3. Définir un étalonnage interne et calculer la concentration de S :



4. Calculer la valeur de la résolution de la colonne.

5. Une mesure de la même quantité de S et E1 sans extraction donne une hauteur de pic à 31 ua pour S et 37 pour E1. Calculer la nouvelle concentration de S, le rendement de l'extraction pour la molécule S.





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°1

CHIMIE ANALYTIQUE

Date : Samedi 21 mars 2009 & Dimanche 22 mars 2009



Correction Exercice n°1 : extraction

- 1 -



Le dosage d'un médicament S à partir du plasma est effectué par chromatographie HPLC avec détection UV à 254 nm.

L'extraction est réalisée avec 5 ml d'acétate d'éthyle.

Après mélange et décantation, le solvant organique est isolé puis évaporé. Le résidu est reconstitué avec 300 μ l de phase mobile puis lavé à l'hexane.

Enfin, 100 μ l sont injectés dans la colonne chromatographique.

1. Après une première injection, vous mesurez la largeur du pic à la base $\omega = 15$ secondes (s). En sachant que la hauteur d'un plateau théorique est de 7,9 μ m et que la colonne présente un nombre de plateau de 6327, quelle est la longueur de la colonne utilisée ?

Nous pouvons écrire que :

$$H = h \cdot N$$

$$H = 7,9 \cdot 10^{-6} \times 6327$$

$$H = 0,05 \text{ m soit } 5 \text{ cm}$$

2. Vous décidez d'utiliser un étalon interne pour un maximum de précision. Vous disposez de 3 composés de la même famille que la molécule à doser :

- A	tr = 8 min	$\omega = 30$ s	insoluble dans l'acétate d'éthyle
- B	tr = 12 min	$\omega = 30$ s	n'absorbe que dans le visible
- C	tr = 8 min	$\omega = 30$ s	absorbe à 254 nm

Quelle molécule utilisez-vous, expliquer ? (tr : temps de rétention)

Sachant que l'extraction est réalisée dans l'acétate d'éthyle, l'étalon interne devra donc être soluble dans ce solvant. De même, la détection se fait à 254 nm, l'étalon interne devra également absorber à cette longueur d'onde.

On peut donc rejeter les composés A et B.

L'extraction est réalisée sur 0,5 mL de solution S plus 0,5 mL de solution étalon EI. Les mesures effectuées



donnent une hauteur de pic à 27 ua (unité arbitraire) pour S et 35 ua pour l'étalon interne. Le pic de front de solvant sort à 1,6 min et à 10 min pour S. une gamme permet de déterminer la droite du rapport des hauteurs de pic en fonction des concentrations :

$$H \text{ pic S} / H \text{ pic EI} = 0,192 \times \text{concentration en } \mu\text{g/mL}$$

3. Définir un étalonnage interne et calculer la concentration de S :

L'étalonnage interne constitue la meilleure précision en chromatographie quantitative. Il permet de minimiser les incertitudes dues à l'injection de l'échantillon, à la vitesse d'écoulement et aux variations d'état de la colonne...

L'étalon interne est donc une substance absente de l'échantillon à analyser, de structure chimique proche de la molécule à doser et présentant certaines de ses propriétés physico-chimiques.

Le composé C est donc choisi et présente les caractéristiques suivantes :

$$t_r = 8 \text{ min} \qquad \omega = 30 \text{ s} \qquad T = t_r + \omega/2 = 8,25 \text{ min}$$

Ainsi, la gamme d'étalonnage permet de déterminer la courbe du rapport des hauteurs de pics en fonction des concentrations :

$$S_S / S_{EI} = 0,192 \cdot C_x \quad \text{d'où} \quad C_x = (S_S / S_{EI}) \cdot (1 / 0,192)$$
$$C_x = (27 / 35) \cdot (1 / 0,192)$$
$$C_x = \mathbf{4,02 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}} \text{ dans } 100 \mu\text{l}$$

$$\text{donc} \quad m_S = 4,02 \times 3 \times 100 \cdot 10^{-3}$$
$$m_S = 1,206 \mu\text{g}$$

$$\text{d'où} \quad C_S = m_S / V$$
$$C_S = 1,206 / 0,5 \cdot 10^{-3} = \mathbf{2,412 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}}$$

4. Calculer la valeur de la résolution de la colonne.



$$K'_E = (t_{RE} - t_0) / t_0 = (8 - 1,6) / 1,6 = 4$$

$$K'_S = (t_{RS} - t_0) / t_0 = (10 - 1,6) / 1,6 = 5,25$$

$$\text{d'où } \alpha = K'_E / K'_S = 5,25 / 4 = 1,3125$$

$$\text{donc } R_S = (K'_S / (1 + K'_S)) \cdot (\alpha - 1 / \alpha) \cdot (\sqrt{N} / 4)$$

$$R_S = (5,25 / 6,25) \times (0,3125 / 1,3125) \times (\sqrt{6327} / 4)$$

$$\mathbf{R_S = 4}$$

5. Une mesure de la même quantité de S et EI sans extraction donne une hauteur de pic à 31 ua pour S et 37 pour EI. Calculer la nouvelle concentration de S, le rendement de l'extraction pour la molécule S.

$$C_{x'} = (S_S / S_{EI}) \cdot (1 / 0,192)$$

$$C_{x'} = (31 / 37) \cdot (1 / 0,192)$$

$$\mathbf{C_{x'} = 4,36 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ dans } 100 \mu\text{l}}$$

$$\text{donc } m_{S_2} = 4,36 \times 100 \cdot 10^{-3}$$

$$m_{S_2} = 0,436 \mu\text{g}$$

$$\text{d'où } C_S = m_{S_2} / V$$

$$C_S = 0,436 / 0,5 \cdot 10^{-3} = 0,873 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

Le rendement de l'extraction est donc de :

$$\rho = C_S / C_{x'} = 2.412 / 0.873$$

$$\rho = 2,76$$

