



MEMOIRE

Présenté à :
FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE.

Pour l'obtention du diplôme de :
MASTER 1275 EN CHIMIE

Spécialité : Chimie pharmaceutique.

Par:

Melle. OUKEBDANE Soumia.

&

Melle. SEBBAHI Merwa Cherifa.

Sur le thème:

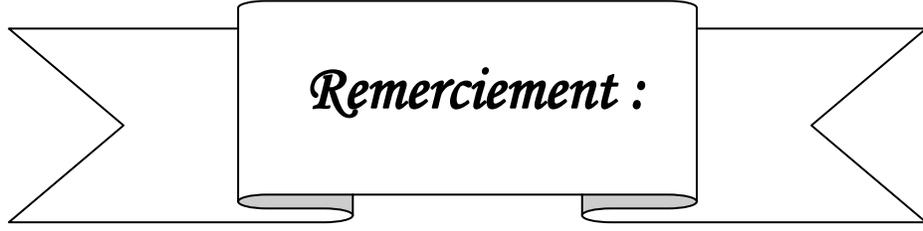
Analyse chimique et toxicologique des médicaments.

Soutenu publiquement le 11 juin 2023 à Tlemcen devant le jury composé de :

Pr. DIB Mohammed El Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Pr. TABET ZATLA Amina	MCA	Université de Tlemcen	Examinatrice
Dr. KRID Meryem	Assistante en toxicologie	CHU de Tlemcen	Encadrante
Dr. KENICHE Assia	MCA	Université de Tlemcen	Encadrante
Dr. HASSAINE Rida	Chercheur CRAPC	Université de Tlemcen	Invité
Pr. BERBER		Centre I2E	Expert I2E

الحمد لله
Alhamdulillah





Remerciement :

"اللهم لك الحمد والشكر في الأولى، ولك الحمد والشكر في الآخرة، ولك الحمد والشكر من قبل، ولك الحمد والشكر من بعد، وآناء الليل وأطراف النهار، وفي كل حين ودائماً وأبداً".

"الحمد لله حباً، والحمد لله شكراً، والحمد لله يوماً وشهراً، والحمد لله عمراً، والحمد لله في السراء والضراء، والحمد لله على ما قسمه الله لنا".

Above all, I thank Allah the almighty for providing me with patience and will to study and reach this level and finish my dissertation.

Thank you for all your countless blessings.

Really, it's hard to find the words to express my gratitude.

My sincere thanks and appreciations to my parents for their care and financial support during my whole journey in university.

Many thanks and respect to the supervisors Doctor KRID Meryem and Doctor KENICHE Assia for their valuable feedback and guidance.

I thank the two engineers Boumediene and HASSAINE Rida and also Doctor SOLTANI Yasmine for helping me with the practical part of this dissertation.

I want to thank my partner OUKEBDANE Soumia who helped me in writing this dissertation.

A special thanks to my beloved friends who gave me the motivation and the strength to finish my way and I'll never forget their support : Sakina - Samah - Sara - Amina - Manal - Hadjer - Rokja - Karima - Ahlam - Khawla - Nour El Houda - Safaa - Hanéne - Ikram - Chahinez - Soulef... and every person that helps me even with little things.

Great thanks and appreciation to all members of the jury.

Allah bless you.

SEBBAHI Merwa Cherifa.

*Avant tous je tiens à remercier le « Allah » le tout puissant, pour me avoir aidé de
cantinier la route par me donner la force, et la patience.*

Mon sincère remerciement à ma proche famille.

*Les encadrantes : Dr. KENNICHE ASSIA, et Dr. KRID MERIEM ; j'apprécie votre
patience, vos conseil, et votre soutien.*

*Je remercie Dr. HASSAINE Rida pour les analyses de Fluoresence et Dr. Boumediene
pour les analyses UV.*

Mon profond remercié à :

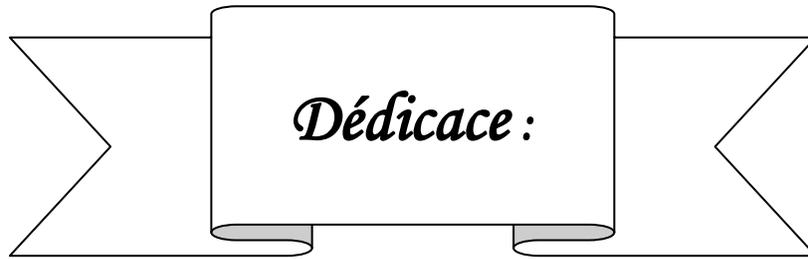
Tous les membres de jury.

Ma tante FATIMA pour leur amour et soutien.

CATHERINE une spéciale femme qui m'a donner tous soutien.

Toutes personnes de près ou de loin qui m'a aidé de continuer, et réaliser ce travail.

OUKEBDANE Soumia.



I dedicate this work to:

My parents and my little sister Basmala Manar.

*My beloved friends : Sakina - Samah - Sara - Amina - Manal - Hadjer – Hanéne -Ikram
and all my friends.*

Everyone interested in this topic.

SEBBAHI Merwa Cherifa.

Je dédier ce travail à ma famille:

*Mes parents pour leur sincère amour, soutien, patience, sacrifice, je vous dis que
vous m'avez donné la force, et le courage ; votre soutien faites toute la différence.*

Mes chères sœur MERIEM, FOUZIA.

Mon frère BILAL.

OUKEBDANE Soumia.

LISTE DES ABREVIATIONS:

AAS :Atomic Absorption Spectrometry.

ADH :Adipic Acid Dihydrazide.

AP : Acute Poisoning.

CEDIA:Clone Enzyme Donor Immuno Assay.

EIA :Enzyme Immune Assay .

ELISA :Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay.

EMIT: Enzyme Multiplied Immunoassay Technique .

FAAS :Flame Atomic Absorption Spectroscopy.

FBB: Fast Blue B.

FIA :Fluoro Immune Assay .

FID :Flame Ionization Detector.

FPIA : Fluorescence Polarization Immuno Assay.

GC (CPG) :Gas Chromatography (Chromatographie en Phase Gazeuse).

GFAAS :Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry.

G6PD :Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase.

HPLC/DAD:High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection.

KIMS :Kinetic Interaction of Microparticles in Solution.

MS :Mass Spectrometry.

NAD :Nicotinamide Adenine Dinucleotide.

PDMS :Poly Di MéthylSiloxane.

RIA :RadioImmuno Assay .

TLC (CCM) :Thin layer chromatography (ChromatographiesurCouche Mince).

UV-vis :Ultra-Violet-visible.

LISTE DES FIGURES:

Figure 1: Spectrophotomètre UV-visible.....	12
Figure 2: Spectrométrie par fluorescence X.	12
Figure 3: Appareil EMIT.	12
Figure 4: Méthode de CORDEBARDT	14
Figure 5: Concentrations toxiques des médicaments.....	17
Figure 6: Doses thérapeutiques des médicaments (Dépretine et L- Dopa).....	17
Figure 7: Spectre d'absorbance (A) du Paracétamol.	18
Figure 8: Courbe d'étalonnage de Paracétamol.	19
Figure 9: Spectre d'intensité de fluorescence de Paracétamol.....	20
Figure 10: Spectre d'absorbance (A) de Carbamazépine.	21
Figure 11: Courbe d'étalonnage de Carbamazépine.	21
Figure 12: Spectre d'intensité de fluorescence de Carbamazépine.	22
Figure 13: Spectre d'absorbance de Lamotrigine.	23
Figure 14: Courbe d'étalonnage de Lamotrigine.	23
Figure 15: Spectre d'intensité de fluorescence de Lamotrigine.....	24
Figure 16: Spectre d'absorbance de Lysanxia.	25
Figure 17: Courbe d'étalonnage de Lysanxia.	25
Figure 18: Spectre d'intensité de fluorescence de Lysanxia.....	26
Figure 19: Spectre d'Absorbance de Depretine.	26
Figure 20: Courbe d'étalonnage de Depretine.	27
Figure 21: Spectre d'intensité de fluorescence de Depretine.....	27
Figure 22: Spectre d'Absorbance de Levodopa.....	28
Figure 23: Courbe d'étalonnage de Levodopa.....	29
Figure 24: Spectre d'intensité de fluorescence de Levodopa.	29
Figure 25: Organigramme des services demandeurs d'analyses toxicologiques.....	29
Figure 26: Répartition graphique de nombre de demande d'analyse toxicologique.	29
Figure 27: Résultats des analyses des drogues.	29

LISTE DES TABLEAUX:

Table I : Concentration des solutions filles de Paracétamol.	18
Table II: Concentration des solutions filles de Carbamazépine.....	20
Table III: Concentration des solutions filles de Lamotrigine.	22
Table IV: Concentration solutions des filles de Lysanxia.	24
Table V: Concentration des solutions filles de Dépretine.	26
Table VI: Concentration des solutions filles de Lévodopa.	28

ملخص :

في هذه الأطروحة ، سنناقش موضوع التحاليل الكيميائية والسمية للأدوية واهميتها في إدارة التسمم. نتيجة لذلك، تم وصف كيفية الكشف عن المواد السامة في البيئات البيولوجية وكيفية قياسها لتحديد تركيزاتها السامة باستخدام تقنيات مختلفة. بهدف الكشف في الوقت المناسب عن سمية الأدوية للمرضى الذين يتناولون أدوية للأمراض المزمنة، و المرضى الذين يعانون من الإدمان لتجنب حالات التسمم لدى الأطفال والبالغين. كما يجب أن تكون الأساليب موثوقة وسريعة لتلبية الطلب على حالات الطوارئ.

الكلمات المفتاحية: الكيمياء - علم السموم - التحاليل الكيميائية - الادوية - المخدرات.

Abstract:

In this dissertation, we will discuss the topic of chemical and toxicological analyses of drugs and their importance in the management of poisonings. As a result, we have been described how to detect toxic substances in biological media and how to measure them to determine their toxic concentrations using different techniques. With the aim of detecting in time the toxicity of drugs for patients who take drugs for chronic pathologies, patients suffering from addiction to avoid poisoning in children and adults. Also the methods must be reliable and fast to meet the demand for emergencies.

Keywords: Chemistry - Toxicology - Chemical Analyses - Drugs.

Résumé:

Dans ce mémoire, nous aborderons le thème des analyses chimiques et toxicologiques des médicaments et de leur importance dans la prise en charge des intoxications. De ce fait, on a décrit comment dépister dans les milieux biologiques les substances toxiques et comment les doser pour déterminer leurs concentrations toxiques en utilisant différents techniques. Avec objectif de déceler à temps la toxicité des médicaments pour les patients qui prennent des médicaments pour des pathologies chronique, les patients qui souffrent d'addiction afin d'éviter les cas d'empoisonnement chez les enfants et les adultes. Aussi les méthodes doivent être fiable et rapide pour répondre à la demande d'urgences.

Mots-clés : Chimie - Toxicologie - Analyse chimique – Médicaments - Drogues.

Sommaire :

INTRODUCTION GENERALE :	1
PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	2
CHAPITRE 1: Toxicologie	2
I. Généralité sur la toxicologie	2
II. Domaine d'application :	2
1) Applications industrielles :.....	2
2) Toxicologie réglementaire :	2
3) Application médicale (toxicologie clinique) :	3
4) Recherche et développement des médicaments :	3
CHAPITRE 2 :Méthodes d'analyses chimiques et toxicologiques.	5
I. Intérêt de l'analyse chimique et toxicologique :	5
II. Les techniques d'analyses chimiques et toxicologies :	5
1 .Méthode colorimétrique:	5
2.Méthode volumétrique :	6
3.Méthode Immunochimique :	6
4. Méthodes spectrométriques:	7
5.Méthode séparative:.....	7
6. Méthode enzymatique :	9
7. Méthode de fluorescence :	9
8. Méthode d'analyse atomique :	9
PARTIE II: PARTIE EXPERIMENTALE	11
PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS	15
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES :	Erreur ! Signet non défini.
REFERENCES :	
.....	Erreur ! Signet non défini.

INTRODUCTION GENERALE :

La toxicologie est depuis longtemps reconnue comme étant la science des poisons. Selon le paradigme toxicologique de Paracelsus, elle est chargée de décrire les effets nocifs des produits chimiques au sens qualitatif et de les évaluer quantitativement en déterminant la quantité d'un produit chimique nécessaire pour produire une réponse donnée sur les organismes vivants. C'est une science multidisciplinaire et implique une multitude de connaissances scientifiques : Biologiques, chimiques, pharmacologiques à fin de mettre en évidence les désordres de l'organisme, le toxique en cause et leur quantification.

Deux points sont essentiels dans la réalisation d'un bilan toxicologique, la qualité des prélèvements et le choix des méthodes analytiques de dépistages ou de dosages. La qualité du prélèvement conditionne la qualité du résultat et donc son interprétation. Il doit être réalisé sur un prélèvement adapté (plasma, urines, cheveux, salive, etc).

Le choix de la méthode analytique dépend de l'objectif recherché. Les méthodes de dépistages ou de dosages rapides automatisées permettent un rendu des résultats rapides mais manquent parfois de spécificité, de sensibilité. L'analyse par des méthodes performantes tel que les méthodes séparatives (chromatographies couplées à de la spectrométrie de masse) permet de confirmer l'identification des molécules incriminées et de les doser dans l'ensemble des milieux biologiques mais ne peut pas toujours être réalisé dans des délais rapides imposés lors de la prise en charge médicale. Elle reste cependant intéressante dans des situations particulières ou il n'y a pas le contexte d'urgence. Dans des cas plus complexes, le choix des méthodes analytiques les plus performantes pouvant nécessiter la collaboration de différents disciplines de chimie qui ont plus de connaissance sur ces techniques d'analyses de dosage, leur avantage et leur inconvénients [1,2].

Les analyses chimiques et toxicologiques sont complémentaires. A travers ce mémoire nous allons aborder l'implication des analyses chimiques dans l'investigation et l'identification des toxiques incriminés ou en cause (médicaments, drogues).

CHAPITRE 1: Toxicologie

I. Généralité sur la toxicologie

La toxicologie est la science des poisons. Plus précisément, Elle concerne les propriétés chimiques et physiques des poisons, leurs effets physiologiques ou comportementaux sur les organismes vivants, les méthodes qualitatives et quantitatives pour leur analyse dans les milieux biologiques et non biologiques et l'élaboration de procédures pour le traitement des empoisonnements.

Un poison (ou une toxine) est considéré comme toute substance qui, lorsqu'elle est consommée en grande quantité, entraînera la maladie ou la mort. L'expression clé est « grande quantité ». Comme l'a observé le médecin du XVI^e siècle Paracelsus (1493-1541): « Toutes les substances sont des poisons; aucune n'est un poison. La bonne dose différencie un poison d'un remède. » [3,4] .

II. Domaine d'application :

La toxicologie est une spécialité multidisciplinaire. Elle a plusieurs applications, notamment :

1) Applications industrielles :

Les toxicologues de recherche employés dans les essais de toxicité dans les industries biotechnologiques et pharmaceutiques effectuent des essais de toxicité, le dépistage des produits chimiques et des médicaments qui ont un potentiel toxique avant leur commercialisation. Les essais précliniques dans l'industrie pharmaceutique comprennent la réalisation d'essais de phase I pour tester les toxicités des agents candidats qui ont été testés chimiquement et biochimiquement comme médicaments thérapeutiques potentiellement utiles [5].

2) Toxicologie réglementaire :

Les toxicologues chargés de la réglementation travaillent principalement dans des organismes administratifs gouvernementaux, à titre de consultants auprès du gouvernement et de l'industrie ou de représentants d'entreprises industrielles. Dans ce rôle, ils sanctionnent, approuvent et surveillent l'utilisation des produits chimiques en

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

établissant des règles et des lignes directrices. Les principes directeurs sont promulgués par des lois promulguées par les autorités fédérales, étatiques et locales qui accordent leur autorité aux organismes de réglementation. Ainsi, au moyen de ces règlements, un organisme détermine qui est responsable de la fabrication, de l'approvisionnement, de la distribution, de la commercialisation et, au bout du compte, du rejet et de la distribution de substances chimiques au public [5].

3) Application médicale (toxicologie clinique) :

La toxicologie s'intéresse à l'identification, au diagnostic et au traitement d'une affection, d'une pathologie ou d'une maladie résultant d'une exposition environnementale, thérapeutique ou illicite à des produits chimiques ou à des drogues[5]. Elle comprend, notamment :

- **Le suivi thérapeutique** : surveillance de l'efficacité de médicament en mesurant sa concentration dans le sang [6].
- **L'intoxication aiguë (AP)** : est une affection clinique causée par l'introduction d'une substance toxique à une dose élevée dans l'organisme en moins de 24 heures. Elle peut être due à l'ingestion, l'inhalation ou le contact cutané [7].
- **Dépistage de drogue** : permet de déterminer la quantité et le type de drogues consommés, surveiller et évaluer l'intoxication ou le surdose [8].
- **Expertise médico-légale** : est un document rédigé par un professionnel de la santé pour vous aider dans toute affaire judiciaire où vous devez fournir une preuve médicale.

4) Recherche et développement des médicaments :

Un médicament est défini par le Groupe scientifique de l'Organisation mondiale de la Santé comme « toute substance ou tout produit utilisé ou destiné à être utilisé pour modifier ou explorer les systèmes physiologiques ou les états pathologiques au profit du bénéficiaire ». Le processus de découverte de médicaments est vaste, risqué, multiforme, coûteux et gratifiant. La toxicologie joue un rôle important tout au long du processus de découverte et de développement de médicaments. Au cours de ce processus, les toxicologues utilisent des méthodes de dépistage quantitatives rapides.

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

L'objectif est de sélectionner les médicaments candidats ayant les profils d'innocuité les plus acceptables [9].

Les méthodes analytiques les plus courantes pour l'identification, la quantification et la toxicité des médicaments sont diverses combinaisons de chromatographie en phase liquide, de chromatographie en phase gazeuse avec spectrométrie de masse et d'autres analyses chimiques [10].

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

CHAPITRE 2 : Méthodes d'analyses chimiques et toxicologiques.

I. Intérêt de l'analyse chimique et toxicologique :

La toxicologie analytique peut aider au diagnostic, au traitement, au pronostic et à la prévention des intoxications. L'évaluation de l'exposition aux accidents chimiques, la surveillance thérapeutique des médicaments, l'analyse médico-légale et la surveillance de l'abus de drogues. Des avancées significatives en toxicologie analytique ont suivi l'introduction des techniques spectroscopiques et chromatographiques dans les années 1940 et au début des années 1950. Cependant, la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie liquide à haute performance ainsi que les techniques d'Immunodosage sont maintenant les plus utilisées [11 ,12 , 13].

II. Les techniques d'analyses chimiques et toxicologies :

Parmi les méthodes analytiques de dépistage et /ou de confirmation, on cite:

1 .Méthode colorimétrique:

La méthode colorimétrique est une méthode qui applique la comparaison de l'intensité de la couleur de la solution avec la couleur de la solution standard. Des mesures sont effectuées pour obtenir des données afin de tirer des conclusions [14].

Une technique colorimétrique a été proposée pour estimer le contenu absolu en cannabinoïdes dans les échantillons de cannabis. Le test est reposé sur la réaction de ces composés avec le réactif Fast Blue B (FBB) immobilisé dans du polydiméthylsiloxane (PDMS) [15].

- **Qualitative:** la couleur évoquée accentue la présence de la substance recherchée sans pouvoir la quantifier. Exemple : Méthode FOREST pour la recherche des phénothiazines [16].
- **Quantitative:** à travers l'utilisation de la spectrométrie à (400-800 nm). Exemple : Dosage des salicylates par la méthode de Trinder, méthode colorimétrique à faible spécificité et à sensibilité variable [16].

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

2. Méthode volumétrique :

C'est une technique d'analyse chimique basée sur la mesure du volume d'une réaction dans une solution. Il utilise le titrage pour déterminer la concentration d'une solution en mesurant soigneusement le volume nécessaire pour réagir avec une autre solution. Ajouter un certain volume de solution standard (c'est-à-dire titrant) de la burette à la solution de concentration inconnue. Une réaction a atteint le point d'équivalence, ou point stœchiométrique, lorsque les deux substances sont dans un rapport stœchiométrique précis. Pour déterminer quand cela se produit, une autre substance (un indicateur) est ajoutée au mélange réactionnel. Il s'agit d'un colorant organique qui change de couleur lorsque la réaction est terminée. Exemple : Dosage de l'alcool par méthode de Cordebard [17].

3. Méthode Immunochimique :

Ces méthodes représentent à elles seules plus de 60 % de l'activité d'un laboratoire de toxicologie. Pour définir les performances d'une méthode d'Immunodosage, 4 caractéristiques fondamentales doivent être considérées : (1) Sensibilité; (2) Spécificité; (3) clarté; (4) Précision [18].

Leur principe est fondé sur la réaction d'un antigène (molécule ou famille chimique) avec un anticorps spécifique de la molécule recherchée existe ainsi L'immunofixation des protéines [19,20].

3.1. En phase homogène :

Sans étape de séparation, on cite: Enzyme multipliedimmunoassay technique (EMIT), clone enzymedonorimmunoassay (CEDIA), la fluorescence polarizationimmunoassay (FPIA), la kinetic interaction of microparticles in solution (KIMS) [16].

3. 1.1. Appareil d'EMIT: Immunodosagequantitatif et/ ou qualitatif pour le complexe Ag-Ac, utilisé dans les Laboratoires de biologie médicale, et le service de toxicologie sur un prélèvement de sang ou urine [16].

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

Principe de fonctionnement :

Utilisant un antigène marqué par une enzyme (glucose-6-phosphate déshydrogénase). Le test repose sur la compétition entre une substance (médicament, drogue) dans l'échantillon et l'antigène de réactif marquée par l'enzyme G6PD. Une fois la molécule à analyser est fixé sur l'anticorps (Ac-Ag) l'enzyme sera libre. Le passage d'une enzyme conformationnelle inactive à une enzyme active permet d'hydrolyser le substrat (glucose-6-phosphate) en utilisant le NAD. Le cofacteur nicotinamide dinucléotide (NAD) est ainsi réduit et transformé en NADH celle-ci est mesurée par absorption à 340 nm sous lumière UV polarisée.

3.2. En phase hétérogène :

Avec étape de séparation : Radioimmunoassay (RIA), l'enzyme immunoassay (EIA), et l'enzyme linked immuno-sorbent assay (Elisa), Fluoroimmunoassay (FIA) [16,21].

4. Méthodes spectrométriques:

Dans l'UV-Visible :

La spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis) est une technique énormément appliquée dans un large champ d'étude scientifique comme l'identification des médicaments et leurs contrôles [22]. Son principe est basé sur la loi de **beer-lambert** :

- **La loi de beer:** La quantité de lumière absorbée est liée à la concentration de la matière absorbante relativement.

-**Loi de Lambert:** La quantité de lumière absorbée est liée aux diamètres de la cuve relativement [23].

Exemple 1 : Application de l'UV-Vis dans le contrôle qualité et de dissolution d'orbifloxacine en formulation pharmaceutique [24].

Exemple 2 : dosage des médicaments :

- **Quantitatif** : Analyse de Bourdon des barbituriques [16].
- **Qualitatif** : dosage des benzodiazépines basé sur le spectre UV [16].

5. Méthode séparative:

5.1. La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) :

Méthode de chimie analytique permet de séparer, distinguer et évaluer chaque composant contenu dans un mélange, se comporte comme une des excellentes

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

méthodes pour la détermination de concentration des médicaments dans le sérum ou le plasma [25].

HPLC utilise les différentes propriétés physico-chimiques des composés pour les séparer. Un liquide, l'éluant, constitue la phase mobile, qui va entraîner plus ou moins facilement les molécules du mélange. Une phase dite stationnaire va permettre de séparer les solutés en interagissant avec eux. Cette phase stationnaire est composée d'un support de porosité variable recouvert d'un gel spécifique choisi en fonction des molécules à séparer. Le support se trouve sous forme de micro-billes maintenues dans la colonne [26,27]. Les détecteurs souvent appliqués sont le détecteur UV-visible ou détecteur à barrettes diodes (HPLC/DAD), le SM et le détecteur à fluorescence [16,28].

Exemple : dosage de cannabis, tramadol par HPLC/DAD.

5.2. Chromatographie en phase gazeuse (CG) :

Le dispositif CPG correspond schématiquement à l'association de plusieurs modules spécialisés : injecteur, colonne et détecteur réunis dans un même bâti. La phase mobile qui transporte l'échantillon à travers la colonne est un gaz appelé gaz porteur. Des débits contrôlés avec précision permettent une reproductibilité élevée des temps de rétention [29, 30].

Plusieurs détecteurs peuvent être liés à la GC :

- Le détecteur à ionisation de flamme (FID)
- Le spectromètre de masse (SM) : La technique GC-MS est utilisée pour dosage de certains principes actifs dans les herbes appliqués dans les préparations cosmétiques, pharmaceutiques, ou alimentaires, environnementales et médico-légales. GC/MS est utilisé ainsi pour l'analyse de cannabis [31,32,20].

5.3. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Plutôt que d'utiliser une phase stationnaire en papier. Le concept de CCM est simple. Grâce à la CCM, il est possible de suivre le déroulement de la réaction et d'identifier les composés présents dans une substance donnée, également utilisée pour séparer des composés identiques dans un mélange [33].

Comme toutes les méthodes chromatographiques, la CCM utilise l'affinité différente de l'analyte pour la phase mobile et pour la phase stationnaire pour réaliser la

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

séparation[34]. Le principe de la CCM est de répartir le composé entre une phase solide déposée sur une plaque de verre ou de plastique et une phase mobile liquide se déplaçant sur la phase solide [34].

6. Méthode enzymatique :

Les méthodes enzymatiques sont généralement basées sur le suivi de la consommation ou de la production du substrat sur une période de temps. Il existe plusieurs classifications des méthodes à base d'enzymes. Par exemple, ils peuvent être classés par la manière dont les réactions enzymatiques sont étudiées (vitesse initiale, courbe, cinétique, etc.), ou par la manière dont le produit est quantifié (continu ou discontinu). Ces tests quantifient la lumière absorbée par un échantillon lorsqu'un faisceau lumineux le traverse [35].

Exemple : dosage de l'alcool par méthode enzymatique en utilisant l'ADH [36,14].

7. Méthode de fluorescence :

La spectrométrie par fluorescence X ou XRF est une technique analytique permettant d'obtenir des analyses quantitatives élémentaires. C'est une technique non destructive. L'échantillon est bombardé par des photons émis d'un tube à rayon X [37].

8. Méthode d'analyse atomique :

L'AAS est une technique analytique permettant la détermination de la concentration d'atomes/ions métalliques dans un échantillon [38].

8.1 Spectrométrie d'adsorption atomique (AAS) :

L'AAS étudie l'absorption de la lumière par les atomes libres dans le domaine UV-Vis pour l'analyse chimique[39,40]. Exemple : dosage de **cuivre** dans la maladie de Menkes et la maladie de Wilson [41,42]. La technique SAA a été utilisé également pour le dépistage de la vitamine B12 en four de graphite, la technique d'analyse se fonde sur l'analyse de cobalt métallique dans la vitamine [43].

8.1.1 Spectroscopie d'absorption atomique de flamme (FAAS) :

FAAS est essentiellement appliqué pour déterminer la concentration de métaux dans une solution en parties par million (ppm), en parties par milliard (ppb). Les ions métalliques sont atomisés de façon d'une fine brume dans une flamme à température élevée, où ils sont réduits en atomes, puis absorbent la lumière de la lampe à cathode creuse particulier à l'élément [38].

PARTIE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

8.1.2. Spectroscopie d'absorption atomique en four graphite (GFAAS) :

Une classe d'atomisation électrothermique, l'échantillon est installé dans un tube creux en graphite, qui est chauffé jusqu'à ce que l'échantillon soit totalement vaporisé. Le GFAAS est beaucoup plus sensible que le FAAS et peut dépister à très faibles concentrations de métaux (moins de 1 ppm) dans des faibles quantités d'échantillons[38].

PARTIE II: PARTIE EXPERIMENTALE.

- **Matériel et méthodes :**

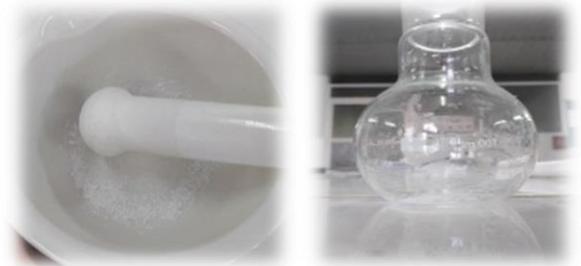
- **Matériel :**

- ✓ Erlenmeyer ou ballon.
- ✓ Becher.
- ✓ Tubes.
- ✓ Eprouvette.
- ✓ Spatule.
- ✓ Support.
- ✓ Agitateur.
- ✓ Balance analytique.
- ✓ Papier PH.
- ✓ Spectrophotomètre UV-visible, fluorescence X.

- **Protocole de l'UV-vis et fluorescence :**

- **Méthode spectrométriques :**

- Préparation des solutions mères de chaque médicament en utilisant les concentrations toxiques :
 - On procède au broyage des médicaments dans un mortier et à l'aide d'un pilon.
 - On pèse la poudre obtenue dans une balance analytique.
 - On mélange la poudre de comprimé broyé dans un erlenmeyer et on ajoute 50 ml de l'eau à l'aide l'éprouvette (solution mère).
 - Préparation des solutions filles pour la gamme d'étalonnage:
 - On utilise 16 tubes (à l'exception de carbamazépine 8 tubes seulement).
 - On fait des dilutions de la solution mère de façon à obtenir un volume final de 4ml dans chaque tube.
- Mesure de PH de la solution mère des médicaments.



PARTIE II: PARTIE EXPERIMENTALE.

Enfin, on mesure le spectre d'absorbance de chaque médicament par spectrophotomètre et on trace la courbe d'étalonnage.



Figure 1: Spectrophotomètre UV-visible.



Figure 2: Spectrométrie par fluorescence X.

➤ Protocole de dosage :

1. Prélèvement :

En toxicologie, le dosage des médicaments se fait dans les différents milieux biologiques soit dans le sang (sérum, plasma) dans le cadre de surveillance thérapeutique des patients consommateurs chroniques des médicaments (carbamazépine, lamotrigine, phénobarbital, tacrolimus, ciclosporine) ou dans les urines pour le dépistage de drogues. Généralement, on utilise le sang pour confirmer une éventuelle prise récente de médicament comme l'exemple de paracétamol dans le cadre d'intoxication aiguë.

Au contraire, les urines sont des indicateurs d'une consommation ancienne ce qui justifie leur intérêt dans la recherche de drogue.

2. Méthode de dosage :

Au niveau de service de toxicologie, on a effectué les analyses des toxiques soit par la méthode automatisée (EMIT) ou par les techniques manuelles (colorimétrie et volumétrie).

2.1. Dosage par l'EMIT :

Après réception des prélèvements sanguins et urinaires, on procède au dosage toxicologique par la méthode d'immuno-analyse automatisée EMIT.

Chaque molécule à analyser, a des calibrateurs qui permettent le traçage de la courbe d'étalonnage



Figure 3: Appareil EMIT.

PARTIE II: PARTIE EXPERIMENTALE.

(absorbance en fonction des concentrations) et des contrôles pour assurer la conformité et la validité de la courbe à chaque analyse effectuée, une fois validé on dose l'échantillon. L'appareil permet un dosage quantitative pour certain médicament (paracétamol, carbamazépine, ciclosporine, tacrolimus, etc) et semi-quantitatif pour d'autres (cannabis, cocaïne, tramadol, etc).

2.2.Dosage par méthode colorimétrique :

La recherche des médicaments par les méthodes colorimétrique permet d'obtenir des résultats quantitatifs. Il s'agit de réaction d'orientation et d'identification manuelle facile à effectuer au sein de laboratoire et qu'elle ne nécessite pas beaucoup de produit chimique.

On a pu déterminer grâce à ces réactions trois molécules dans les milieux biologiques : les salicylés, les phénothiazines (lévomépromazine, chlorpromazine) et l'amitriptyline.

La présence de médicament dans l'échantillon signale une éventuelle consommation de médicament et ceci est détecté par l'apparition de couleur indicateur après ajout de produit chimique spécifique pour chaque médicament :

Salicylés (antalgique) : on met 1 volume de l'échantillon et un volume de réactif (Trinder), on obtient une coloration violette s'il y a présence de la molécule.



Phénothiazine (neuroleptique) : on mélange 1 ml d'extractum (obtenue après extraction d'échantillon d'urine), 1ml d'acide phosphorique et un ml de benzoparaquinone, on obtient une couleur Rose pour la chlorpromazine ou Violet pour Levomepromazine.



Amitriptyline (antidépresseur) : On verse l'extractum obtenu après extraction d'échantillon d'urine (5ml urine+ 8ml dichlorométhane+ 1ml NaOH à 40%) dans une capsule en porcelaine et la chauffe sur bain de sable après séchage on la laisse refroidir et on rajoute le réactif révélateur qui est l'acide sulfurique, si on obtient une coloration de lit de vin on déduit qu'il y a une éventuelle consommation de l'amitriptyline.



PARTIE II: PARTIE EXPERIMENTALE.

2.3. Dosage volumétrique : Méthode de CORDEBARDT :

C'est une méthode officielle ancienne utilisée pour le dosage d'alcool dans le sang et permet un dosage quantitatif. Elle est basée sur les propriétés chimiques et physiques d'alcool. Cette technique passe par deux étapes dont la première étape est la distillation. Cette dernière consiste à extraire l'alcool du sang grâce à sa propriété de volatilité et la deuxième consiste au titrage volumétrique en utilisant sa propriété d'oxydoréduction.

2.3.1 Distillation :

Dans un ballon à fond rond contenant 70 ml de solution saturée d'acide picrique, 20 ml de l'eau distillée et une cuillère de Talc, ajouter 5 ml de sang prélevé sous agitation constante.

Distiller 30 ml dans une fiole jaugée de 50 ml préalablement remplie de 20 ml de l'eau distillé. A la fin de la distillation, faut agiter et récupérer le distillat.

2.3.2 Dosage :

Dans un erlenmeyer de 250 ml : 10 ml de solution de nitrochrome 0,05 N + 2 ml de distillat, ensuite agité et laisser refroidir pendant 10 minutes (réaction exothermique).

- Ajouter 20 ml d'eau distillée, et 10 ml d'iodure de potassium.
- Titrer avec du thiosulfate de Na, jusqu'à ce que la couleur jaune disparaisse et que les sels de chrome deviennent bleus (X1).
- Effectuer le même essai de contrôle en remplaçant le distillat par de l'eau distillée (X2).

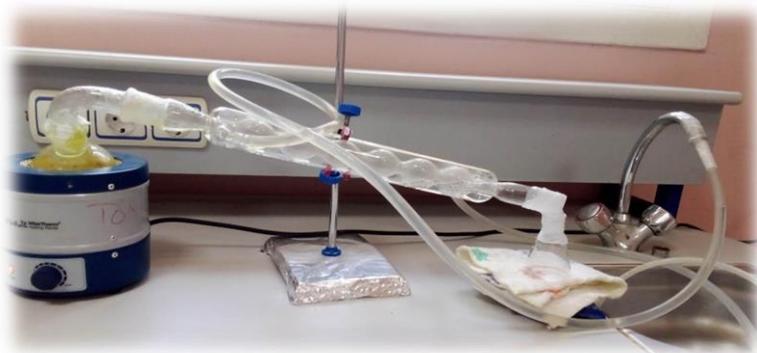


Figure 4: Méthode de CORDEBARDT .

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

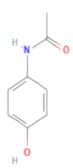
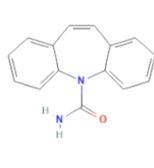
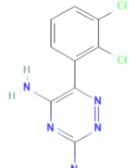
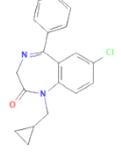
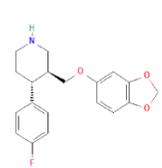
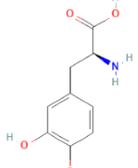
Introduction :

Les examens toxicologiques ont évolué. Après l'approche immunologique utilisant la reconnaissance par un anticorps d'une molécule ciblée ou d'une classe de molécules, il est de plus en plus possible d'utiliser l'approche séparative de la chromatographie gazeuse ou liquide (associée ou non à une détection par spectrométrie de masse) ainsi que d'autres méthodes chimiques (spectrophotométrie, fluorescence, etc.) afin de séparer, d'identifier et de quantifier un large éventail de molécules. Les analyses toxicologiques et chimiques sont complémentaires. On ne peut pas confirmer une éventuelle exposition au poison sans passer par l'analyse chimique toute en utilisant des méthodes convenables (sensible, spécifique, rapide) aux milieux biologiques disponible.

I. Analyse chimique : Stage au niveau du laboratoire COSNA.

Dans cette première partie, nous allons mener plusieurs expériences pour une série de chaque médicaments en fonction de leurs concentrations toxiques (**paracétamol**, **Tegretol**, **Lamictal**, **Lyzanxia**) ou de leur dose thérapeutiques (**Depretine** et **L-Dopa**) en utilisant des méthodes chimiques tel que la méthode spectrophotométrique UV-Visible et la méthode de fluorescence. Par la suite, on compare les résultats obtenus avec celle décrite dans la littérature.

1. Propriété chimique des médicaments :

Médicament	Paracétamol	Tegretol (Carbamazepine)	Lamictal (lamotrigine)	Lyzanxia (Prazépan)	Depretine (paroxetine)	L- Dopa
Formule moléculaire	C ₈ H ₉ NO ₂	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	C ₉ H ₇ Cl ₂ N ₅	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O	C ₁₉ H ₂₀ FNO ₃	C ₉ H ₁₁ NO ₄
Masse molaire (g/mol)	151.16	236.27	256.09	324.8	329.4	197.19
Structure chimique						
PH	5	6	6	6	6	5

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

Le choix de cette série des médicaments a été faite sur la base de leur prescription pour des pathologies chroniques, ce qui implique leur prise à long terme provoque la toxicité. Donc un suivi régulier de leur analyse s'impose.

2. Propriétés thérapeutique des médicaments : [42,44,45]

Indication thérapeutiques des médicaments					
Paracétamol	Tégrétol	Lamotrigine	Lysanxia	Dépretine	L-Dopa
Le paracétamol est un choix de première ligne pour la gestion de la douleur et l'antipyrèse chez une variété de patients, y compris les enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées, les personnes souffrant d'arthrose, de maux de tête simples et les personnes souffrant de troubles musculosquelettiques non inflammatoires.	La carbamazépine est un médicament aromatique utilisé pour les anticonvulsivants et l'analgésie, aussi connu sous le nom de Tegretol ou carbamazépine.	Lamotrigine est un agent anti-épileptique à grande efficacité. Il fonctionne dans des canaux sodiques sensibles au voltage, stabilisant ainsi la membrane neuronale et inhibant la libération de neurotransmetteurs excitateurs tels que le glutamate et l'aspartate.	médicament sédatif. il ralentit les fonctions du corps et du cerveau. Il peut être utilisé pour soulager l'anxiété et l'insomnie (difficulté à s'endormir ou à rester endormi).	antidépresseur connu sous le nom d'inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS). Il est souvent utilisé pour traiter la dépression et parfois le trouble obsessionnel-compulsif (TOC), les attaques de panique, l'anxiété ou le trouble de stress post-traumatique (TSPT).	précurseur de la dopamine. il est utilisé comme agent de remplacement de la dopamine pour le traitement de la maladie de Parkinson. Il est utilisé le plus efficacement pour contrôler les symptômes bradykinétiques apparents dans la maladie de Parkinson.

3. Concentration et dose des médicaments étudiés :

3.1 .Concentration Toxique:

La toxicité est proportionnelle à la concentration toxique des médicaments ainsi que l'intensité et la gravité de l'intoxication. Les médicaments psychotropes (carbamazépine, dépretine, lysanxia) ont un index thérapeutique étroit à ne pas dépasser, ce qui implique que les concentrations toxiques sont rapidement atteintes.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

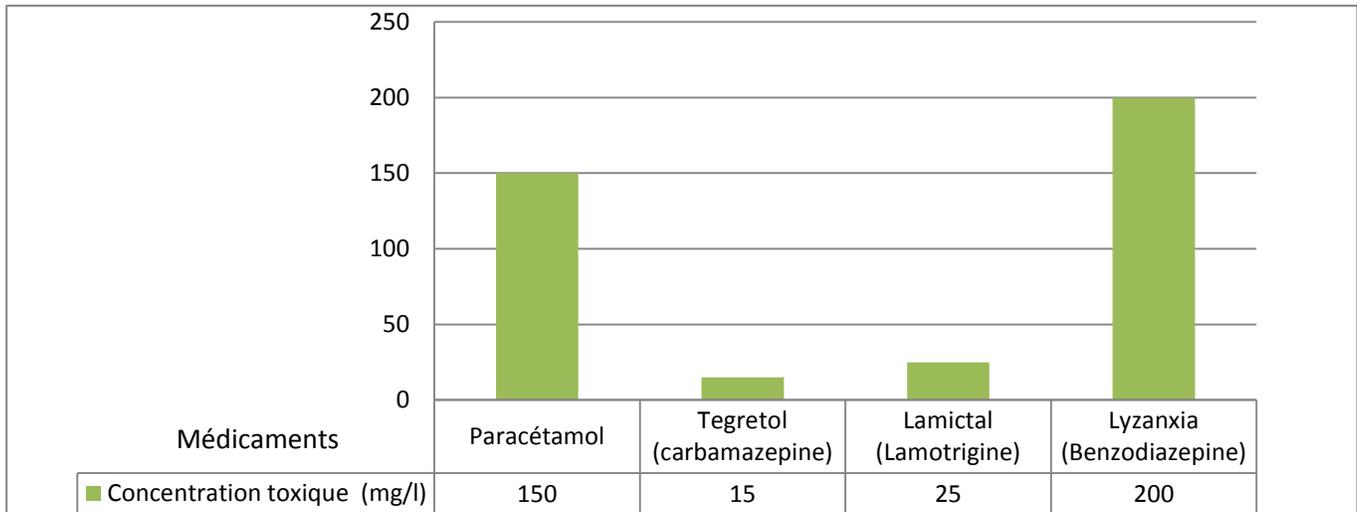


Figure 5: Concentrations toxiques des médicaments.

3.2 Doses thérapeutiques :

Pour les deux médicaments (Dépretine et L-Dopa), on a utilisé les doses thérapeutiques pour préparer les concentrations thérapeutiques nécessaires à l'analyse à cause d'absence de donnée exacte sur la concentration toxique dans la littérature.

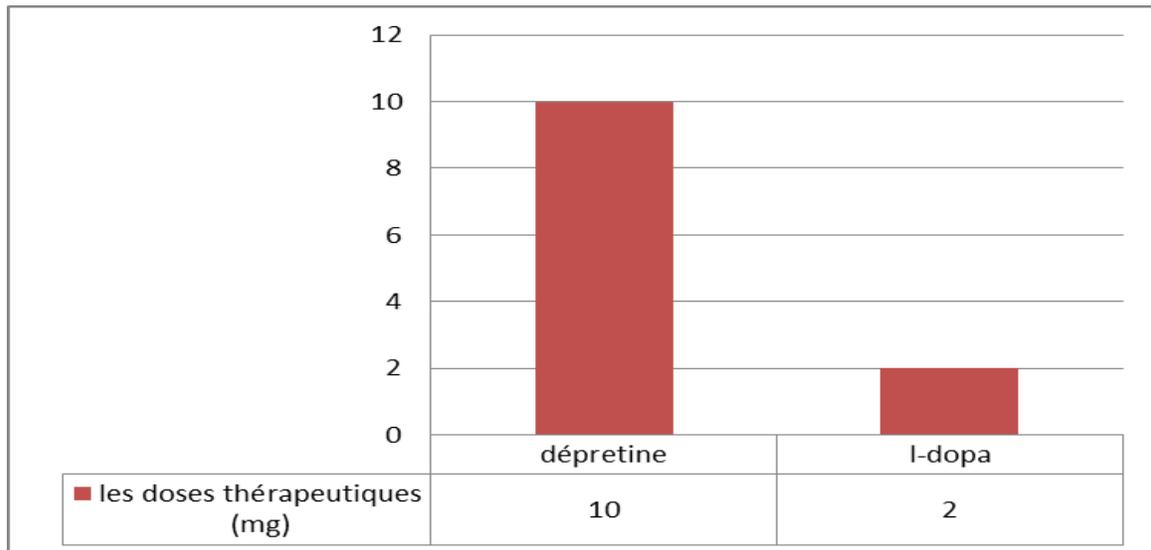


Figure 6: Doses thérapeutiques des médicaments (Dépretine et L- Dopa).

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

4. Résultats :

- i. **Paracétamol** : Une série de solution a été préparée afin d'établir la courbe d'étalonnage du paracétamol.

Table I: Concentration des solutions filles de Paracétamol.

Tubes	Volume de sol mère (ml)	Concentration de solution fille (*10 ⁻⁴ mol/l)
1	0.25	0.62
2	0.5	1.24
3	0.75	1.86
4	1	2.48
5	1.25	3.1
6	1.5	3.72
7	1.75	4.34
8	2	4.96
9	2.25	5.58
10	2.5	6.2
11	2.75	6.82
12	3	7.44
13	3.25	8.06
14	3.5	8.68
15	3.75	9.3
16	4	9.92

➤ Spectre d'absorbance (A):

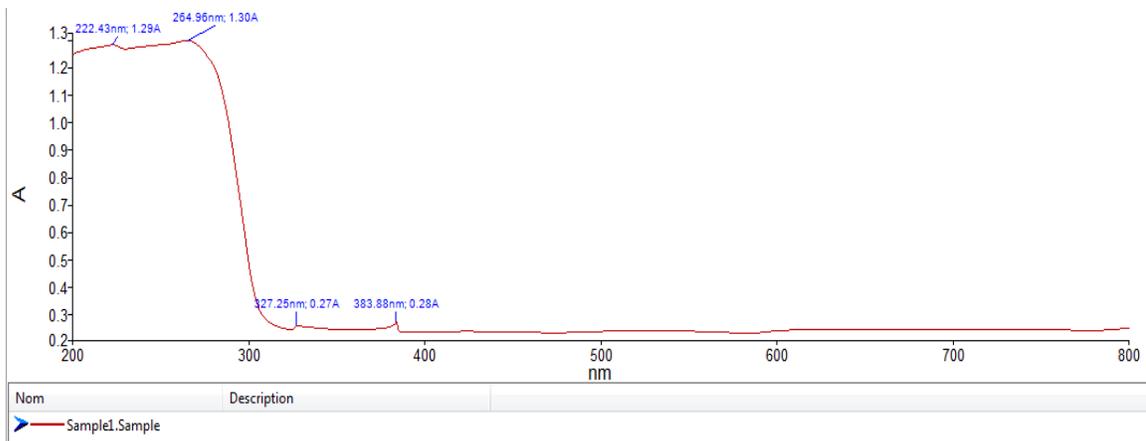


Figure 7: Spectre d'absorbance (A) du Paracétamol.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

Le spectre d'absorbance montre qu'il y a quatre bandes d'absorbance avec un maximum d'absorption: $A=1,30$; $\lambda_{\max}= 264.96\text{nm}$. Avoir plusieurs bandes c'est logique vu qu'on a utilisé le médicament avec l'excipient et non pas le principe actif uniquement.

Ce spectre est obtenu par balayage de la solution mère ($C= 9.92 * 10^{-4} \text{ mol/l}$). Cette dernière est préparée à partir de la concentration toxique de paracétamol. Donc l'objectif est d'avoir des spectres de références pour les doses toxiques.

➤ Courbe d'étalonnage :

On trace la courbe d'étalonnage ($A= f(C)$) de l'absorbance en fonction de la concentration.

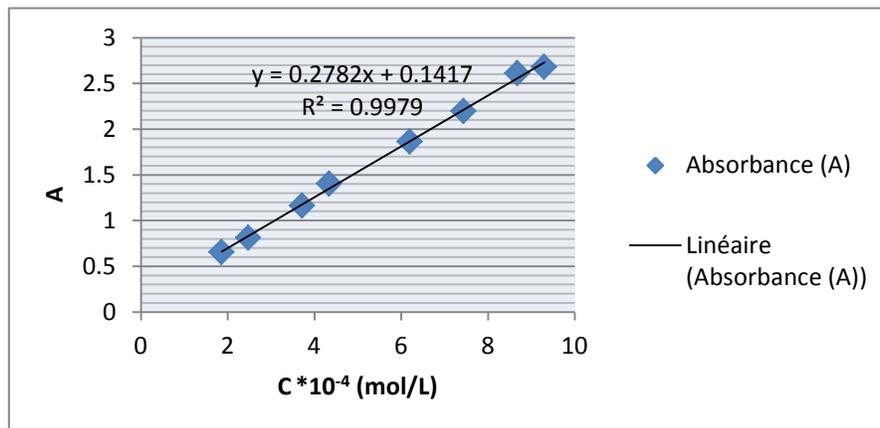


Figure 8: Courbe d'étalonnage de Paracétamol.

La courbe d'étalonnage nous servira comme moyen de vérification de l'absorbance maximale $A= 1.3$ obtenue par balayage de la solution mère. Il suffit seulement de l'extrapoler sur la Courbe d'étalonnage et on détermine sa concentration. Aussi, c'est un outil qu'on peut l'utiliser pour déterminer la concentration d'un échantillon X après la mesure de son absorbance par spectrophotomètre.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Spectre de fluorescence :

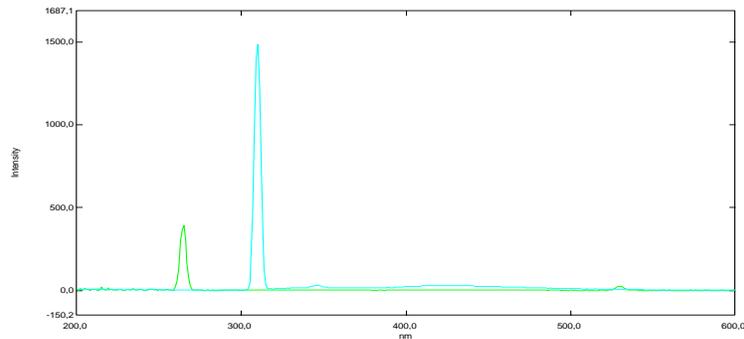


Figure 9: Spectre d'intensité de fluorescence de Paracétamol.

Le spectre suivant montre les différents essais à trouver la bonne longueur d'onde $\lambda_{\max} = 264.9 \text{ nm}$ par fluorescence qui est la même λ_{\max} du spectre d'absorbance UV.

Ce spectre sert de référence pour la concentration toxique du paracétamol. L'objectif est de soumettre l'échantillon sanguin à la fluorescence et d'en tirer la conclusion si c'est la concentration toxique est atteinte. Ceci n'a pas pu être réalisé, car les moyens de nettoyer la cuve dédiée à la fluorescence ne sera pas réalisé vu qu'il n'y a pas la stérilisation par UV. Vu qu'il y a le risque que dans l'échantillon sanguin il y a des virus et des bactéries. Mais ce travail est l'initiation d'un long projet qui fera le brassage entre la toxicologie et la chimie.

ii. Carbamazépine (Tégretol) :

Table II: Concentration des solutions filles de Carbamazépine.

Tubes	Volume de sol mère(ml)	Concentration de sol fille (* 10^{-5} mol/l)
1	0.5	0.74
2	1	1.48
3	1.5	2.22
4	2	2.96
5	2.5	3.7
6	3	4.44
7	3.5	5.18
8	4	5.92

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Spectre d'absorbance (A):

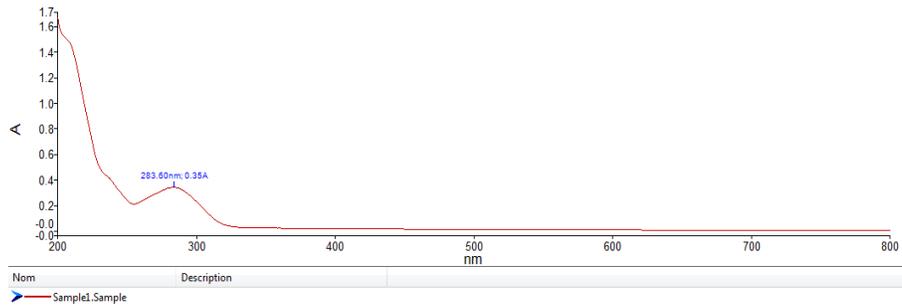


Figure 10: Spectre d'absorbance (A) de Carbamazépine.

La carbamazépine est très sensible à l'air et à la lumière ce qui nécessite des précautions lors de la préparation des solutions à analyser pour avoir des résultats d'absorbance fiable. Ce spectre est obtenu par balayage de la solution mère ($C = 5.92 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$). Le spectre d'absorbance montre un maximum d'absorption $A = 0.35$ à la longueur d'onde $\lambda_{\text{max}} = 283.6 \text{ nm}$.

➤ Courbe d'étalonnage :

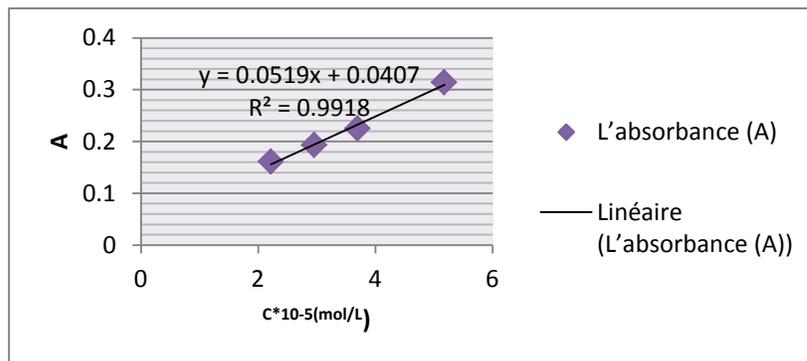


Figure 11: Courbe d'étalonnage de Carbamazépine.

La courbe d'étalonnage permet de vérifier l'absorbance maximale $A = 0.35$ obtenue par balayage de la solution mère. A travers l'extrapolation de l'absorbance sur la Courbe d'étalonnage et la déduction de la concentration d'un échantillon de concentration inconnu notamment issu du milieu biologique.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Spectre de fluorescence :

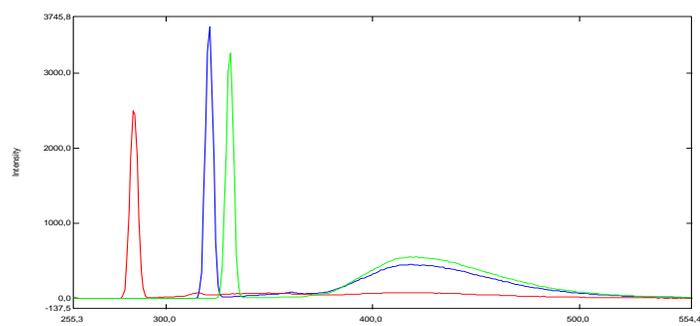


Figure 12: Spectre d'intensité de fluorescence de Carbamazépine.

Le spectre suivant montre les différents essais à trouver la bonne longueur d'onde λ_{\max} = 283.6nm par fluorescence qui est la même λ_{\max} du spectre d'absorbance UV. Ce spectre sert de référence pour la concentration toxique du Carbamazépine.

iii. Lamotrigine (Lamictal) :

Table III: Concentration des solutions filles de Lamotrigine.

Tubes	Volume de sol mère (ml)	Concentration de sol fille (*10 ⁻⁵ mol/l)
1	0.25	0.58
2	0.5	1.17
3	0.75	1.75
4	1	2.34
5	1.25	2.92
6	1.5	3.51
7	1.75	4.09
8	2	4.68
9	2.25	5.27
10	2.5	5.85
11	2.75	6.44
12	3	7.02
13	3.25	7.61
14	3.5	8.19
15	3.75	8.78
16	4	9.37

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Spectre d’Absorbance :

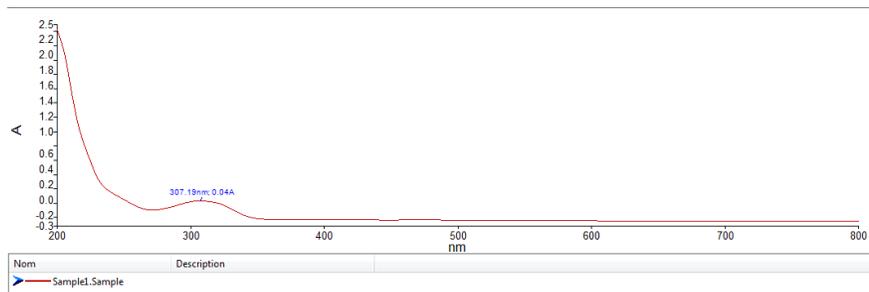


Figure 13: Spectre d’absorbance de Lamotrigine.

L’absorbance maximal de Lamictal est de $A = 0.04$ à la longueur d’onde maximal $\lambda = 307.19 \text{ nm}$. Ce spectre est obtenu par balayage de la solution mère ($C = 9.37 \cdot 10^{-5} \text{ mol / l}$).

Cette dernière est préparée à partir de la concentration toxique de lamotrigine. Donc il pourra être un spectre de référence, si on le compare avec un spectre UV d’un échantillon de concentration inconnue. Malheureusement pour les mêmes raisons citées plus hauts, bien que nous avons des échantillons issus des milieux biologiques lors de notre stage au service de toxicologie au CHU, mais par faute de stérilisation à la fin de la cuve d’analyse, nous avons évité ce test.

➤ Courbe d’étalonnage :

On trace la courbe d’étalonnage de Lamotrigine des absorbances en fonction des concentrations.

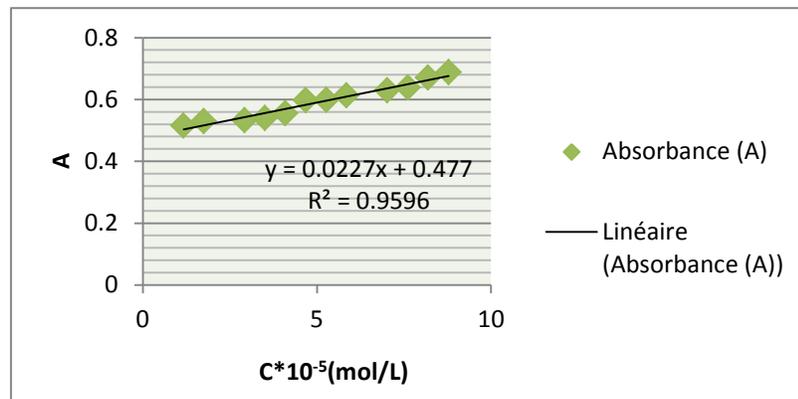


Figure 14: Courbe d’étalonnage de Lamotrigine.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

La courbe d'étalonnage est linéaire, l'extrapolation de l'absorbance sur la courbe permet de déterminer les concentrations des échantillons à analyser et de vérifier la concordance des résultats de balayage avec celle de la courbe obtenue par dilution de la solution mère.

➤ **Spectre de fluorescence** :

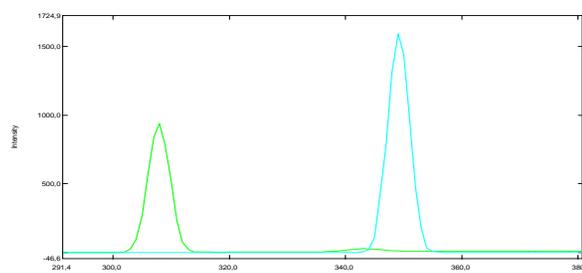


Figure 15: Spectre d'intensité de fluorescence de Lamotrigine.

Le spectre suivant montre les différents essais à trouver la bonne longueur d'onde $\lambda_{\max} = 307.2 \text{ nm}$ par fluorescence qui est la même λ_{\max} du spectre d'absorbance UV. Ce spectre sert de référence pour la concentration toxique du Lamotrigine.

iv. **Prazepam(Lysanxia)** :

Table IV: Concentration solutions des filles de Lysanxia.

Tubes	Volume de sol mère (ml)	Concentration de sol fille ($\cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$)
1	0.25	0.08625
2	0.5	0.1725
3	0.75	0.25875
4	1	0.345
5	1.25	0.43125
6	1.5	0.5175
7	1.75	0.60375
8	2	0.69
9	2.25	0.77625
10	2.5	0.8625
11	2.75	0.94875
12	3	1.035
13	3.25	1.12125
14	3.5	1.2075
15	3.75	1.29375
16	4	1.38

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Spectre d'absorbance :

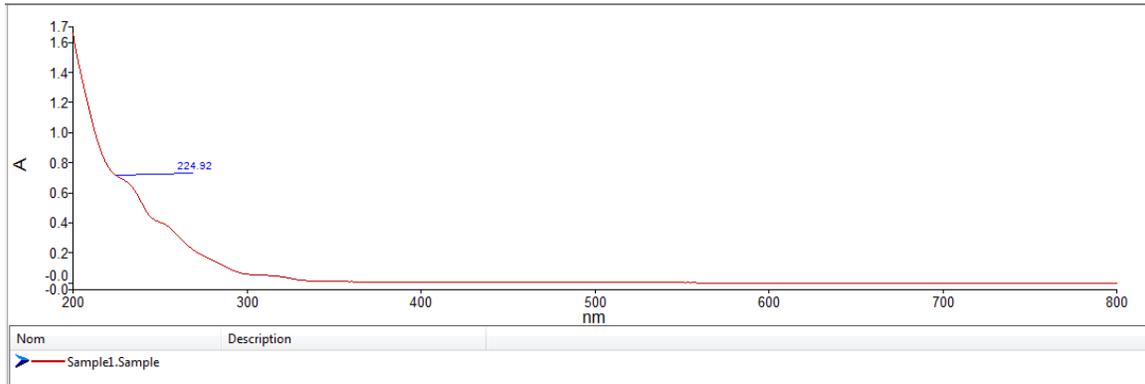


Figure 16: Spectre d'absorbance de Lysanxia.

Lespectre ci-dessus, montre qu'il y a une bande maximal d'absorbance $A = 0,7$ à la longueur d'onde $\lambda_{\max} = 224,92 \text{ nm}$. Ce spectre est obtenu par balayage en utilisant la solution mère ($C = 1,38 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$). Cette dernière est préparée à partir de la concentration toxique de prazépam.

➤ Courbe d'étalonnage :

On trace la courbe d'étalonnage de lysanxia de l'absorbance en fonction de concentration $A = f(C)$.

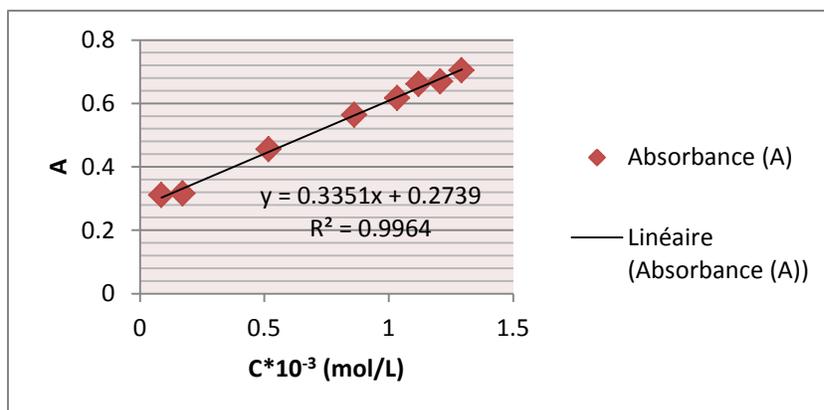


Figure 17: Courbe d'étalonnage de Lysanxia.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Spectre de fluorescence de lysanxia :

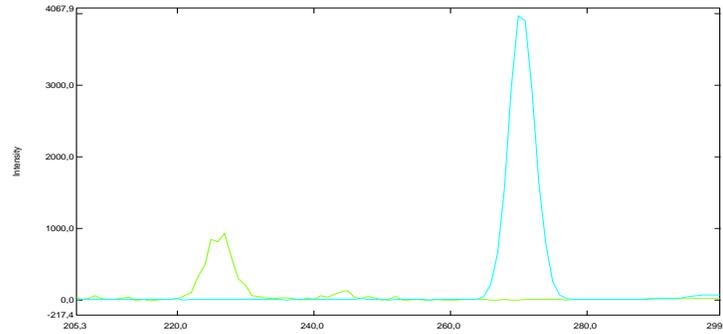


Figure 18: Spectre d'intensité de fluorescence de Lysanxia.

Le spectre suivant montre les différents essais à trouver la bonne longueur d'onde $\lambda_{\max} = 224.9 \text{ nm}$ par fluorescence qui est la même λ_{\max} du spectre d'absorbance UV. Ce spectre sert de référence pour la concentration toxique du Lysanxia.

v. Paroxétine (Dépretine) :

Table V: Concentration des solutions filles de Dépretine.

Tubes	Volume de sol mère (ml)	Concentration de sol fille ($\cdot 10^{-4}$ mol/l)
1	0.5	0.607
2	1	1.214
3	1.5	1.821
4	2	2.428
5	2.5	3.035
6	3	3.642
7	3.5	4.249
8	4	4.856
9	4.5	5.463
10	5	6.07

➤ Spectre d'Absorbance :

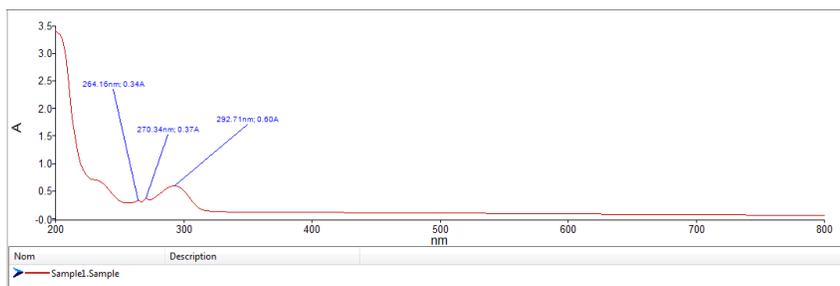


Figure 19: Spectre d'Absorbance de Depretine.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

Le spectre d'absorbance montre un maximum d'absorption $A = 0,6$ à la longueur d'onde $\lambda_{\max} = 292,71 \text{ nm}$. Ce spectre est tracé par balayage de la solution mère ($C = 6,07 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$). Cette solution est préparée en utilisant la concentration thérapeutique de paroxétine.

➤ Courbe d'étalonnage :

On trace la courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration $A = f(C)$ pour déterminer la concentration thérapeutique de déprétine. A travers cette courbe, on vérifie l'absorbance maximal obtenue par balayage de la solution mère et l'extrapole sur la courbe.

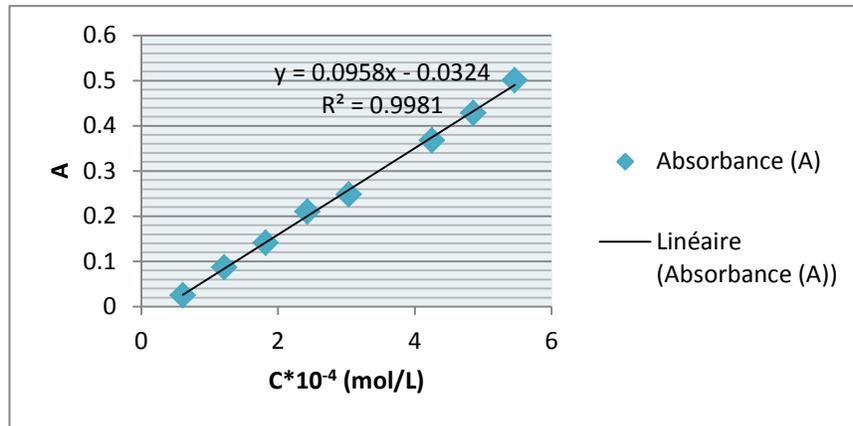


Figure 20: Courbe d'étalonnage de Depretine.

➤ Spectre de fluorescence :

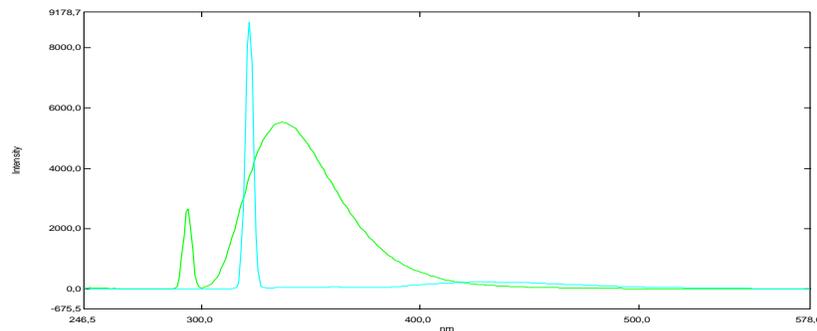


Figure 21: Spectre d'intensité de fluorescence de Depretine.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

Le spectre suivant montre les différents essais à trouver la bonne longueur d'onde $\lambda_{\max} = 292.7 \text{ nm}$ par fluorescence qui est la même λ_{\max} du spectre d'absorbance UV. Ce spectre sert de référence pour la concentration thérapeutique du Depretine.

vi. Lévodopa (parkinane) :

Table VI: Concentration des solutions filles de Lévodopa.

Tubes	Volume de sol mère (ml)	Concentration de sol fille ($*10^{-4} \text{ mol/l}$)
1	0.5	0.338
2	1	0.676
3	1.5	1.014
4	2	1.352
5	2.5	1.69
6	3	2.028
7	3.5	2.366
8	4	2.704
9	5	3.38

➤ Spectre d'Absorbance :

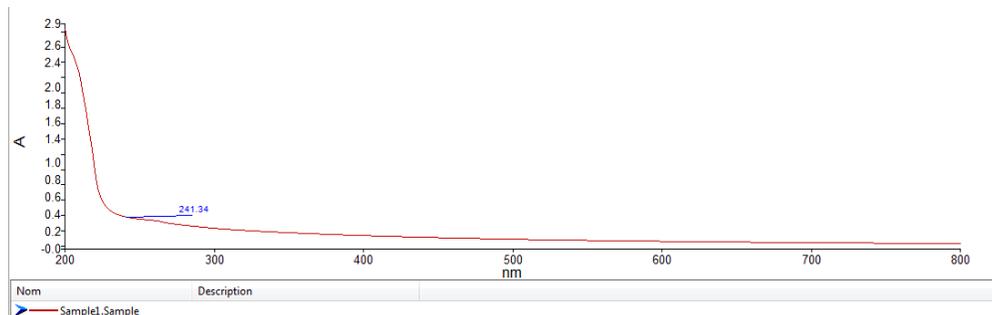


Figure 22: Spectre d'Absorbance de Levodopa.

Le spectre d'absorbance montre un maximum d'absorption $A = 0,39$ à la longueur d'onde $\lambda_{\max} = 241,34 \text{ nm}$. Ce spectre est tracé par balayage spectrométrique de la solution mère ($C = 3.38 * 10^{-4} \text{ mol/l}$). Cette solution est préparée en utilisant la concentration thérapeutique de Lévodopa obtenue après dilution des comprimés de levodopa..

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Courbe d'étalonnage :

On trace la courbe d'étalonnage de parkinane de l'absorbance en fonction de concentration $A = f(C)$. On peut à travers cette courbe déterminer la concentration d'une solution en extrapolant l'absorbance sur la courbe.

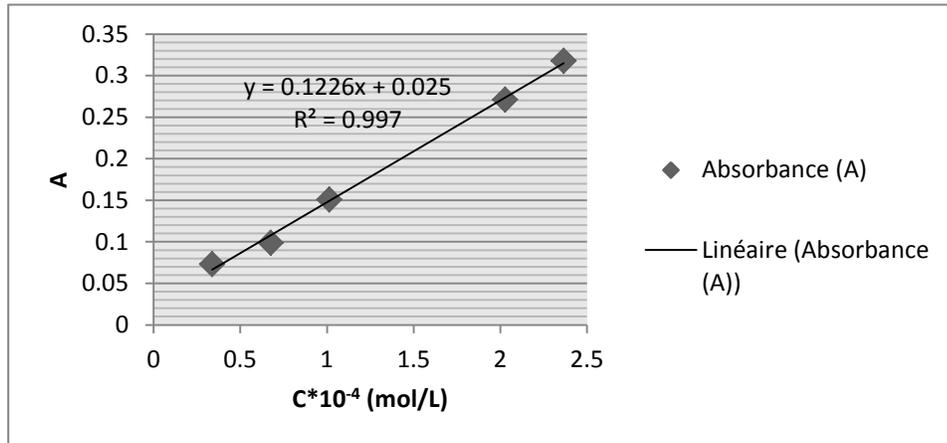


Figure 23: Courbe d'étalonnage de Levodopa.

➤ Spectre de fluorescence

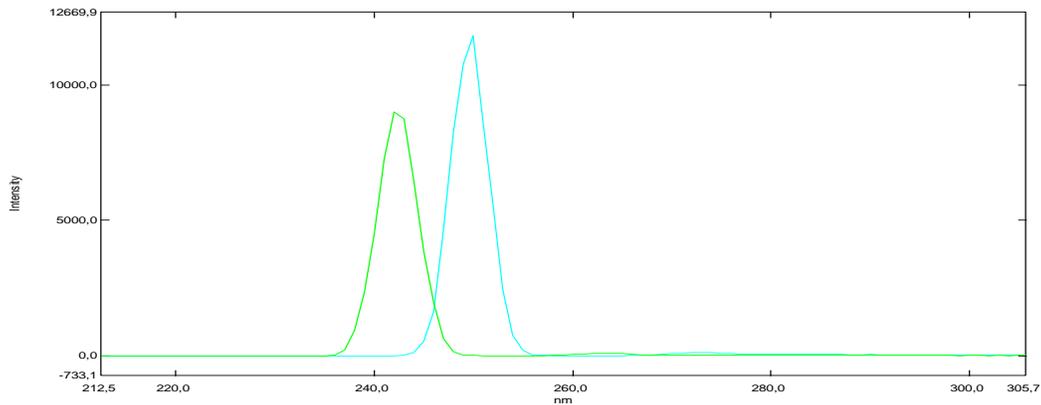


Figure 24: Spectre d'intensité de fluorescence de Levodopa.

Le spectre suivant montre les différents essais à trouver la bonne longueur d'onde $\lambda_{\max} = 241.34 \text{ nm}$ par fluorescence qui est la même λ_{\max} du spectre d'absorbance UV. Ce spectre sert de référence pour la concentration thérapeutique du Levodopa.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

II. Analyse Toxicologique : Stage au niveau service de toxicologie CHU Tlemcen.

Le service de Toxicologie reçoit chaque jour plusieurs demandes d'analyses toxicologiques soit dans le cadre d'investigation lors d'intoxication aiguë, de suivi thérapeutique ou de dépistage de drogue à partir des différents services de CHU Tlemcen ou même des services externes durant la période de notre stage allant de 5 février 2023 jusqu'à 15 mars 2023.

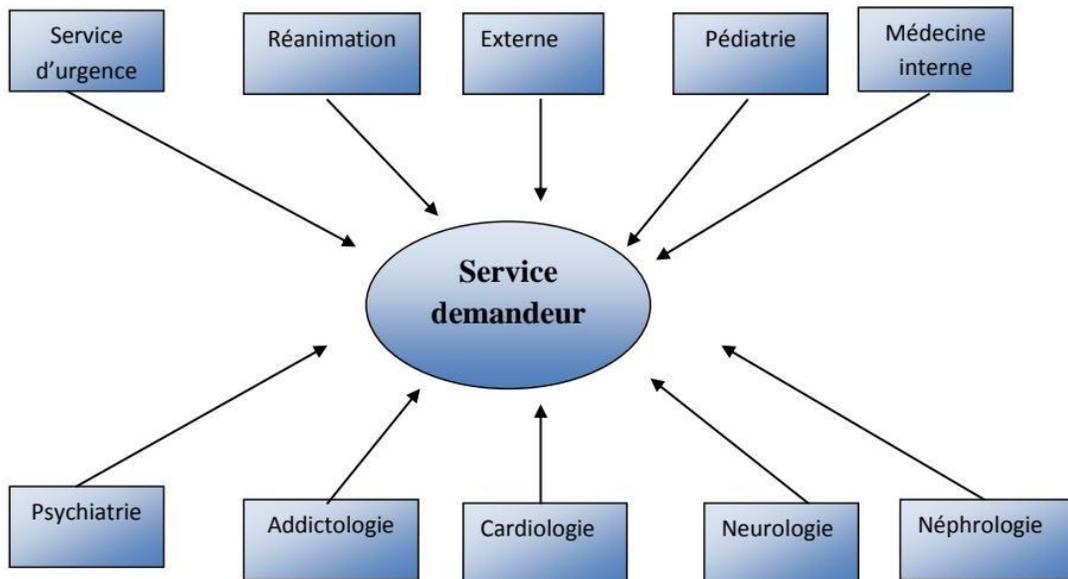
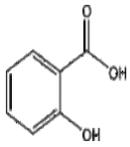
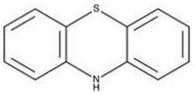
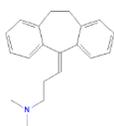
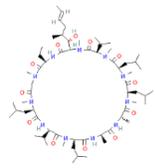


Figure 25: Organigramme des services demandeurs d'analyses toxicologiques.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

➤ Propriété chimique des médicaments :

Médicament	Salicylé	Phénothiazines.	Aamitriptyline.	Tacrolimus	Ciclosporine
Formule moléculaire	C ₇ H ₆ O ₃	C ₁₂ H ₉ NS	C ₂₀ H ₂₃ N	C ₄₄ H ₆₉ NO ₁₂	C ₆₂ H ₁₁₁ N ₁₁ O ₁₂
Masse molaire (g/mol)	138,12	199.28	277.4	804.0	1202.6
Structure chimique					

➤ Résultats :

1. Nombre de demande d'analyse toxicologique :

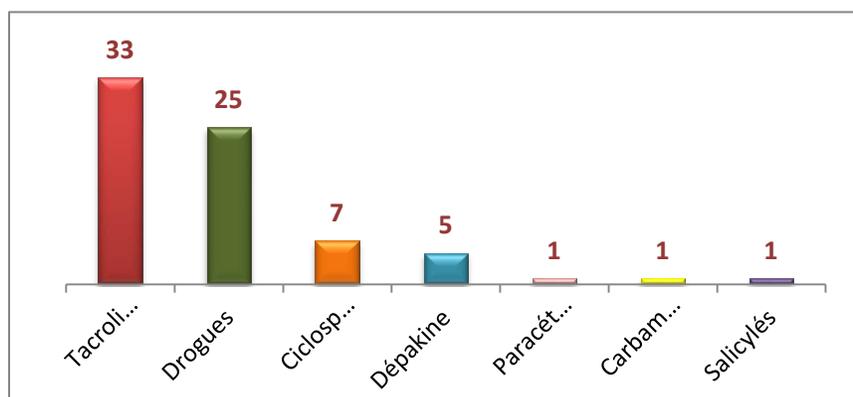


Figure 26: Répartition graphique de nombre de demande d'analyse toxicologique.

➤ Description graphique :

Au totale, 73 demandes d'analyses ont été reçu au niveau de CHU Tlemcen durant la période allant de 05 février 2023 jusqu'à 15 mars 2023 dont majoritairement de la part de service de néphrologie avec 45% demandes de dosages de tacrolimus (immunosuppresseur) dans le cadre de suivi thérapeutique puis de l'analyse des drogues dans la cadre de dépistage de toxicomanie (34%) provenant de service de psychiatrie et d'addictologie.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

2. Répartition des demandes d'analyses des drogues :

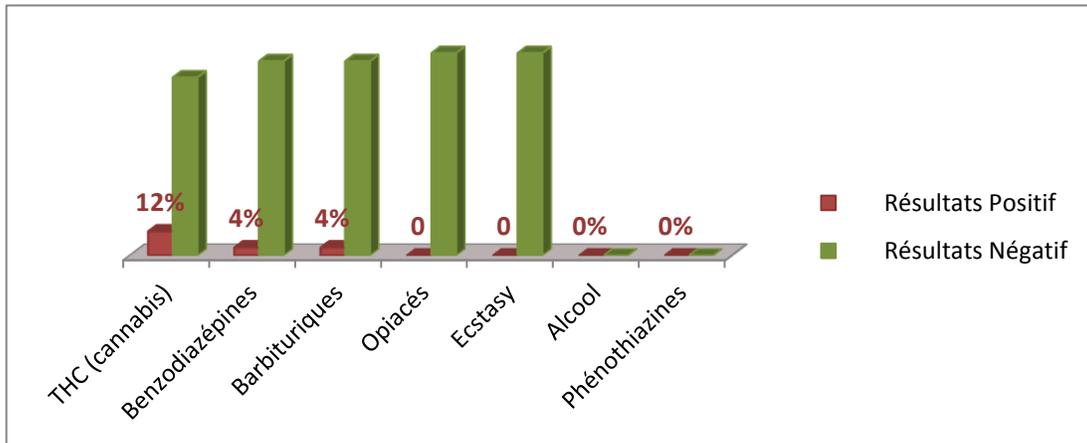


Figure 27: Résultats des analyses des drogues.

➤ Description graphique :

Les résultats des analyses des drogues, ont montré que trois patients ont été positifs pour le cannabis (12%) et deux pour les benzodiazépines (4%) et les barbituriques (4%) parmi les 25 molécules dépistées. La présence de cannabis dans les urines signifie une éventuelle consommation de cette molécule (toxicomanie). Par contre, la présence des benzodiazépines et des barbituriques peut être due à une thérapie ultérieure. De plus, les analyses ont été négatives pour l'alcool (effectuée pour une seule patiente) et les phénothiazines.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES :

Les innovations technologiques ont permis de détecter plus de substances dans différentes matrices. De ce fait, les examens toxicologiques ont évolué de l'utilisation de l'approche immunologique utilisant la reconnaissance par un anticorps vers l'approche séparative de la chromatographie gazeuse ou liquide associée à une détection par spectrométrie de masse (SM) et les méthodes chimiques spectroscopiques. Ces méthodes offrent la possibilité de séparer, d'identifier, de détecter et de quantifier un large éventail de substances avec grande sensibilité et spécificité.

En utilisant les méthodes analytiques chimiques et toxicologiques (EMIT, fluorescence, spectrophotomètre UV-visible), on avait la possibilité de doser les médicaments, de déterminer sa concentration toxique et même tracer la courbe d'étalonnage qui servira de moyen pour le dosage de ces molécules. Ainsi que la recherche et l'identification des drogues dans les milieux biologiques.

La toxicologie et l'analyse chimique sont inséparables. Nous avons pu montrer à travers les expériences chimiques réalisés, le lien entre deux spécialités différentes mais qui sont complémentaires et nécessaires dans l'investigation et le diagnostic médical.

On peut conclure, qu'au niveau de l'hôpital de Tlemcen, le suivie de l'analyse toxicologique des médicaments provenant des différents services est un geste quotidien primordiale dans la prise en charge des patients. Le développement de méthodes d'analyses chimique rapide et simple, est plus que nécessaire.

Un regard vers l'avenir....

Ce travail est uniquement le début d'un projet entre le laboratoire COSNA et le service de toxicologie du CHU de Tlemcen, pour l'optimisation des méthodes d'analyse toxicologique pour les différents médicaments et drogues, en s'appuyant sur des techniques chimiques complémentaires aux méthodes toxicologiques actuelles.

ANNEXE :

LAMICTAL. Substance active : Lamotrigine.

Excipients communs : 1-hexénol, Acétaldéhyde, Acide acétique, Alcool benzylique, Butyrate d'éthyle, Calcium carbonate, Cassis arôme, Clou de girofle essence, Diméthyle sulfure, Glucose, Hyprolose faiblement substituée, Jasmone, Magnésium aluminosilicate, Magnésium stéarate, Maltodextrine, Maltol, P-hydroxybenzyl acétone, Povidone K 30, Propylèneglycol, Saccharine sodique, Sodiumcarboxyméthylamidon, Triacétine, Triéthyle citrate, Vanilline

Autres excipient (spécifique à certaines formes) : Alcool méthylique.

LYSENXIA. Substance active: prazépam.

Excipients : cellulose microcristalline, amidon de maïs, magnésium stéarate, silice colloïdale anhydre colorant (excipient) : indigotine laque aluminique

PARKINANE. Substance active : Trihexyphénidyle chlorhydrate.

Excipients : Amidon de maïs, Bleu patenté V, Copolymère d'acide méthacrylique et de méthacrylate de méthyle, Érythrosine, Gélatine, Gomme laque décirée, Povidone, Saccharose, Talc.

TEGRETOL. Substance active : Carbamazépine.

Excipient commun : Cellulose microcristalline

Autres excipients (spécifiques à certaines formes) : Acétoïne, Acide lactique, Acide sorbique, Alcool benzylique, Cacao extrait naturel, Caramel arôme, Carmellose sodique, Croscarmellose de Na, Delta-décalactone, Eau purifiée, Éthylcellulose dispersion aqueuse, Eudragit NE 30 D, Fer jaune oxyde, Fer rouge oxyde, Furfural, Furoate de méthyle, Hyétellose, Hypromellose, Macrogol 400 stéarate, Magnésium stéarate, P-hydroxybenzoate de méthyle, P-hydroxybenzoate de propyle, Propylèneglycol, Ricin huile hydrogénée polyoxyéthylénée, Saccharine sodique, Silice colloïdale, Silice colloïdale anhydre, Sorbitol, Sorbitol à 70%, Talc, Titane dioxyde, Vanilline.

DEPRENYL. Substance active : Sélagiline chlorhydrate.

Excipients : Amidon de maïs, Cellulose microcristalline, Magnésium stéarate, Mannitol, Povidone.

PARALGAN. Substance active: Paracétamol.

Excipients :povidone, amidon de maïs, carboxyméthylamidon sodique, talc, stéarate de magnésiu.

RÉFÉRENCES:

1. Greim, H. and R. Snyder, *Introduction to the Discipline of Toxicology. Toxicology and Risk Assessment: A Comprehensive Introduction*, 2018: p. 1-19.
2. Bartoli, M., et al. *Recommandations pour la prescription, la réalisation et l'interprétation des examens de biologie médicale dans le cadre des intoxications graves*. in *Annales de biologie clinique*. 2012.
3. Waters, M.D. and J.M. Fostel, *Toxicogenomics and systems toxicology: aims and prospects*. *Nature Reviews Genetics*, 2004. **5**(12): p. 936-948.
4. Langman, L.J. and B.M. Kapur, *Toxicology: then and now*. *Clinical biochemistry*, 2006. **39**(5): p. 498-510.
5. Barile, F.A., *Principles of toxicology testing* 2013: CRC Press.
6. Partridge, A.H., et al., *Interrupting endocrine therapy to attempt pregnancy after breast cancer*. *New England Journal of Medicine*, 2023. **388**(18): p. 1645-1656.
7. Soave, P.M., et al., *Acute poisoning in children admitted to pediatric emergency department: A five-years retrospective analysis*. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 2022. **93**(1).
8. Bennett, A.C., et al., *An evaluation of reports of ciprofloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin-association neuropsychiatric toxicities, long-term disability, and aortic aneurysms/dissections disseminated by the Food and Drug Administration and the European Medicines Agency*. *Expert opinion on drug safety*, 2019. **18**(11): p. 1055-1063.
9. Dorato, M.A. and L.A. Buckley, *Toxicology in the drug discovery and development process*. *Current protocols in pharmacology*, 2006. **32**(1): p. 10.3. 1-10.3. 35.
10. Fraser, J., *93C8Drugs and toxicology*, in *Forensic Science: A Very Short Introduction* 2020, Oxford University Press. p. 0.
11. Jîtcă, G., et al., *A Simple HPLC/DAD Method Validation for the Quantification of Malondialdehyde in Rodent's Brain*. *Molecules*, 2021. **26**(16): p. 5066.
12. DeVito, S.C., *The Need for, and the Role of the Toxicological Chemist in the Design of Safer Chemicals*. *Toxicological Sciences*, 2018. **161**(2): p. 225-240.

13. Miller, J.D.R., L.D. Mullen, and P.J. Speaker, *The sentinel role of forensic toxicology laboratories to identify and act upon diverse drug threats by addressing toxicology and economic demands*. Forensic science international: Synergy, 2022. **5**: p. 100292.
14. Wulandari, D., et al. *A simple colorimeter based on microcontrollers to detect food dyes*. in *Journal of Physics: Conference Series*. 2020. IOP Publishing.
15. Jornet-Martínez, N., et al., *A Colorimetric Method for the Rapid Estimation of the Total Cannabinoid Content in Cannabis Samples*. Molecules, 2023. **28**(3): p. 1303.
16. Moutaouakkil, Y., et al., *Les méthodes analytiques en toxicologie*. Médecine thérapeutique, 2018. **24**(5): p. 336-341.
17. Oriakhi, C.O., *Chemistry in Quantitative Language: Fundamentals of General Chemistry Calculations*2021: Oxford University Press.
18. Rizzo, F., *Optical Immunoassays Methods in Protein Analysis: An Overview*. Chemosensors, 2022. **10**(8): p. 326.
19. Karfo, R., et al., *Interprétation délicate de l'immunofixation des protéines sériques*. Pan African Medical Journal, 2018. **30**(1).
20. Yamoun, A., et al., *Comparaison de deux techniques de dépistage urinaire du Δ^9 -carboxy-tétrahydrocannabinol: immunochimie (EMIT) versus chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)*. Toxicologie Analytique et Clinique, 2017. **29**(2): p. S55.
21. Sakamoto, S., et al., *Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites*. Journal of natural medicines, 2018. **72**: p. 32-42.
22. Tom, J., *UV-Vis Spectroscopy: Principle, Strengths and Limitations and Applications* Article Published: June 30, 2021.
23. Jayakumar, S., *Components, Principle and Applications of UV Vis-Spectrophotometer*2016.
24. Cazedey, E.C.L. and H.R.N. Salgado, *Development and validation of UV spectrophotometric method for orbifloxacin assay and dissolution studies*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2014. **50**.

25. Meesters, R.J. and G.P. Hooff, *State-of-the-art dried blood spot analysis: an overview of recent advances and future trends*. *Bioanalysis*, 2013. **5**(17): p. 2187-2208.
26. Petrova, O.E. and K. Sauer, *High-performance liquid chromatography (HPLC)-based detection and quantitation of cellular c-di-GMP*. *c-di-GMP Signaling: Methods and Protocols*, 2017: p. 33-43.
27. Chopinet, C., *Les méthodes d'analyse en toxicologie dans la police scientifique depuis l'affaire Marie Besnard*. 2012.
28. Vlase, L., et al., *Development and validation of an HPLC-UV method for determination of synthetic food colorants*. *Revue Roumaine de Chimie*, 2014. **59**: p. 719-725.
29. Al-Bukhaiti, W.Q., et al., *Gas chromatography: Principles, advantages and applications in food analysis*. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 2017. **6**(1): p. 2319-1473.
30. Labidi, A., *Chromatographie en Phase Gazeuse CPG2020*.
31. Ighodaro, O., et al., *Toxicity and gas chromatography-mass spectrometry analyses of a polyherbal formulation commonly used in Ibadan metropolis, Nigeria*. *Toxicology Reports*, 2020. **7**: p. 1393-1401.
32. Lu, J. and S.L. Salzberg, *SkewIT: The Skew Index Test for large-scale GC Skew analysis of bacterial genomes*. *PLoS computational biology*, 2020. **16**(12): p. e1008439.
33. Bele, A.A. and A. Khale, *An overview on thin layer chromatography*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2011. **2**(2): p. 256.
34. Kumar, S., K. Jyotirmayee, and M. Sarangi, *Thin layer chromatography: a tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2013. **18**(1): p. 126-132.
35. Ornelas-González, A., et al., *Enzymatic methods for salivary biomarkers detection: Overview and current challenges*. *Molecules*, 2021. **26**(22): p. 7026.

36. Ou, Y., R.E. Wilson, and S.G. Weber, *Methods of measuring enzyme activity ex vivo and in vivo*. Annual Review of Analytical Chemistry, 2018. **11**: p. 509-533.
37. Saudrais, F., *Physico-chimie des interactions de plastiques microstructurés avec des protéines ou des peptides modèles par des approches expérimentales et in silico*, 2023, Université Paris-Saclay.
38. Peš, O., *Mass spectrometry in bioanalytical and clinical applications*.
39. Bilak, R., *Validation de la méthode d'analyse du potassium K2O par spectroscopie d'absorption atomique dans les phosphates (OCP)*, 2017.
40. Ebraheem, S.A.M., A.A. Elbashir, and H.Y. Aboul-Enein, *Spectrophotometric methods for the determination of gemifloxacin in pharmaceutical formulations*. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2011. **1**(4): p. 248-253.
41. Pognan, F., et al., *The evolving role of investigative toxicology in the pharmaceutical industry*. Nature reviews drug discovery, 2023. **22**(4): p. 317-335.
42. Hejl, C.G., et al. *Validation d'une méthode de dosage du cuivre dans le sérum par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique*. in *Annales de Toxicologie Analytique*. 2009. EDP Sciences.
43. Braham-Jmili, N., et al., *Dosage du cobalt par spectrométrie d'absorption atomique et application à l'analyse de la vitamine B12*. Revue Française des Laboratoires, 2004. **2004**(359): p. 39-44.
44. Ma, D., et al., *LC-MS3 Strategy for Quantification of Carbamazepine in Human Plasma and Its Application in Therapeutic Drug Monitoring*. Molecules, 2022. **27**(4): p. 1224.
45. Choi, H. and M.J. Morrell, *Review of lamotrigine and its clinical applications in epilepsy*. Expert opinion on pharmacotherapy, 2003. **4**(2): p. 243-251.



République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abu Bakr Belkaid - Tlemcen-

Business Model Canevas

نموذج العمل التجاري

Étudiantes :

Nom / prénom : **OUKEBDANE Soumia .**

Nom / prénom : **SEBBAHI Merwa Cherifa.**

Encadrantes :

Nom/ prénom: **Dr. KENICHE Assia.**

Nom/ prénom: **Dr. KRID Meryem.**

Code du projet : S_49.

Nom du projet : Création d'un laboratoire de toxicologie (TOXLAB).



TOXLAB

1. Value proposition:



Après notre recherche y'a même pas des laboratoires des analyses toxicologique en Algérie, Où l'Algérie regroupe 5 centres anti- poison, au niveau des wilayas suivantes :

- Alger, Oran, Annaba, Constantine, Ouargla.

« Consolidation du marché, progrès technologiques et adoption du système basée sur le Cloud »

- Ces technologies concurrentes du Cloud dans l'industrie des tests de toxicité sont maintenant adoptées progressivement ces technologies auront un potentiel de croissance rentable sur le marché à l'avenir, car de plus en plus d'échantillons sont actuellement analysés pour une utilisation abusive.

➤ **Valeur ajouté sur:**

Le court terme: Création d'un laboratoire de toxicologie (**TOXLAB**) adopte un système basée sur la plateforme **Cloud**.

Le long terme: Donne naissance à des laboratoires de toxicologie animale, et laboratoires vétérinaires.

2. Customer segments :



Les clients potentiels (attendus) :

Il peut s'agir d'individus qui consomment pour satisfaire certains de leurs besoins ou responsables des achats qui consomment au nom d'une entreprise ou d'une institution.

- **Secteur de santé :** Professionnels de santé.
- **Secteur de science :** écoles, associations, laboratoire de recherche.
- **Autres :** personnes alcooliques, industries pharmaceutiques...

3.Customer Relationship:



- ✓ Concernant la communication avec les clients, faut toujours garder le bon contact avec les clients (le client est roi).
- ✓ Des promotions spéciales pour les clients fidèles à notre laboratoire.
- ✓ VIP clients : offres et traitement spéciales.
- ✓ Avoir une bonne réputation dans le marché pour gagner la confiance des clients.
- ✓ Consultation téléphoniques.

4. Channels :

On va faire des cartes de visites, une page Facebook, et aussi faire une publicité dans la radio pour attirer les fabricants des produits cosmétiques vers nos laboratoire

- **Page Facebook:** TOXLAB DZ.
- **Carte de visite:** porte toxlab23@gamil.com.
- **Radio :**
- **Publicité :** sur la télévision, plaques routières.

5. Key partners :

Nous devons aussi choisir nos fournisseurs sur lesquels on va compter pour assurer l'approvisionnement de la matière première, pour cela nous avons décidé de travailler avec les fournisseurs, (on ne peut pas choisir un seul sinon le sort de l'entreprise va être entre ses mains).

- ✓ VIVACOS, SARL, Rouiba (Cité Ouled Ali).
- ✓ NL Kimya SARL, koléa.
- ✓ Collaboration nationale et internationales: **collabore également avec les facultés de médecine et de pharmacie et les facultés des sciences, par la formation des étudiants et stagiaires et par des travaux de recherches dans le cadre de la préparation de thèses et de mémoires.**
- ✓ Collaboration avec des PME et acquièrent de telles industries.
- ✓ Industries pharmaceutiques.
- ✓ ASSF.
- ✓ NADE.

6. Key activities :

Généralement, l'une des deux choses qui se passe dans un laboratoire de toxicologie :
La recherche ou les tests (analyses).

- ✓ Analyses : toxicologiques.
- ✓ Analyses microbiologiques.
- ✓ Analyses physico-chimiques.
- ✓ Consultation téléphoniques.

Analyses sur ...

- **Drogues :** produits d'origine inconnue soupçonnés de contenir (substance médicamenteuse ou illicite), toxicomanie.
- **Les médicaments, les compléments alimentaires.**
- **Contrôle qualité :** matière première.

7. Key resources :



-L'implantation du projet : Le laboratoire va être implanté à la zone d'**IMAMA** proche du pôle de la **rocade**, sur une superficie de 120 m². Cet endroit a été choisi.

Pour les raisons :

- Facile a localisé par les clients parce que c'est une zone connue.
- Loin du surpeuplement de la population.
- Calme, pratique et confortable.

Tableau 1 : Matériels et équipements du laboratoire d'analyses toxicologique.

Équipement :	Description :	Nombre d'unité :
Béchers.	Béchers forme basse 250 ml 3.3	9
Tubes à essais en verre.	Gradué.	100.
Réfrigérateur.	- Volume: 80 L. - Dégivrage auto. - Evaporateur intégré. - Charnière de portes réversibles	1
Micro-tubes type Eppendorf.	Micro Centrifuge Tube 0.6ml	2 boites.
PH mètre digital	Digital PH Papier TDS EC conductimètre température.	1
GC-Ms.	Outil de mesure de la masse du sang, analyseur pour laboratoire.	1
Mortier et pilon.	En porcelaine.	2
Incubateur 20 L.	Capacité : 20 L Chambre et Porte intérieure vitrée : visibilité des échantillons à l'intérieur sans ouvrir la porte. T _A = +5C° à 65C°.	1
Balance de précision.	Balance magnétique.	1
Agitateur	A hélice pour laboratoire numérique 20L-40 L.	1
Spectrophotomètre (UV/visible).	-Écran tactile couleur — Fonctions : absorbance, transmittance, concentration	1
Etuve de 80 à 200°C.	contrôle de T(c°) par microprocesseur	1
Micropipette.	De 10-100ul.	4
Pipette a graduée.	Pipette graduée en polystyrène stérile 10mL Transparente et peu fragile	4
Fioles jaugées - classe A – bouchées.	Verre Borosilicaté 3.3 – Col rodé – Bouchon en polypropylène.	10
Eprouvette.	graduée à bec - verre borosilicaté 3.3 - 250 MI.	8

Portoir.	Niveau pour tube de 16mm -62 tubes.	10
Plateau pour paillasses.	sans paroi de fond, Plateau en verre opaline de 6 mm d'épaisseur, Verre trempé émaillé, étanche	6
Entonnoir.	tige longue, verre borosilicaté.	3
Bec benzène.	Bec Bunsen simple pour gaz butane ou propane.	3
Verre de montre.	VERRE DE MONTRE BORD RODE D=80MM VERRE BORO - PACK 10.	3 boîtes.
Erlenmeyer.	(FIOLE CONIQUE COL ETROIT PYREX 1L).	9
Ampoule à Décanter.	Ampoule graduée. (SQUIBB) rob. Téflon	2
Chronomètre.	digital 1/100e sec	1
Trousse de dissection.	//////////	1
Centrifugeuse.	//////////	1
Lampe torche.	//////////	1
Bureau.	Simple Maison Bureaux D'ordinateur de Bureau Table D'étude En Bois Avec Chaises En Gros.	4
Ordinateur.	Fixed Stand Base Desktop PC i3 i5 i7 i9 rtx 2080 All-In-One Computer.	2
Imprimante.	MJ8330 80mm imprimant Wi-Fi LAN RS232 BT USB Price Ticket impresora portrait Printer Thermal POS Receipt 80 mm plug Printer.	1
Chaises.	//////////	9
Poubelle.	//////////	4
Armoire.	Du labo.	3
Spatule.	Spéciale au laboratoire.	4

Tableau 2: Les matières premières du laboratoire d'analyse toxicologique.

Equipement :	Description :	Nombre d'unité :
Les boîtes de pétrie.	De 6 ergots - Ø 55 mm - En plastique stérile.	100
Pipette pasteur.	3 ml graduée 0.50 propres – PACK 500.	3 boîtes.
Pissette d'eau distillée.	3 capacités au choix : 250,500 et1000 ml.	50 de 1000 ml.
Les lames.	Boîte de 50 unités.	2
Seringues.	de 1 ml à 5 ml.	100.
Solution de Solution de NaOH.	NaOH (10 %).	100 (1000 ml).

Soluté isotonique de Na CL.	A 0,9%.	100 (1000 ml).
Bande de fixation.	microporeuse adhésives hypoallergénique.	50
Boules de coton Pure.	Sachet de 700 boules de coton.	100
Les embouts.	//////////	20
Lunettes de sécurité.	Mamba1.	4
Statif de laboratoire.	En métal.	3
Goupillons pour ballons et flacons.	//////////	5
Stylos.	Bleu, noire ; à bille.	2 boites.
<i>Extincteur.</i>	2kg.	1
Agrafeuse.	Vertex.	2

Besoins en personnel :

Le laboratoire va recruter cinq employés, et il va être organisé comme suit :

Poste:	Qualification:
1 Directeur.	Diplôme en chimie.
2 Toxicologue.	Diplôme en toxicologie.
3 Pharmacien.	Diplôme en pharmacie.
4 Microbiologiste.	Diplôme en microbiologie.
5 Secrétaire.	Diplôme en informatique.
6 Agent de sécurité.	-

8. Cost structure :



(Calculs prévisionnel des différents couts de l'entreprise).

Les montants nécessaires pour l'acquisition des matériels sont comme suit :

Tableau 1 : Matériels et équipements du laboratoire.

Equipement :	Description :	Prix unitaire :	Nombre d'unité :	Prix d'achat :
Béchers.	Béchers forme basse 50 ml 3.3	3 624,00 DA	9	32 616 DA
Tubes à essais en verre.	Sans rebord 75 mm.	2 900,00 DA	100.	290 000 DA.
Réfrigérateur.	- Volume: 80 L. - Dégivrage auto. - Evaporateur intégré. - Charnière de portes réversibles.	227 500 DA	1	227 500 DA
Micro-tubes type Eppendorf.	Micro Centrifuge Tube 0.6ml	2 188,14 DA.	2 boîtes.	4 376,28 DA.
PH mètre digital.	Digital PH Papier TDS EC conductimètre température.	21 648,83 DA.	1	21 648,83 DA
GC-Ms.	Outil de mesure de la masse du sang, analyseur pour laboratoire.	3 314 511,18 DA.	1	3 314 511,18 DA
Mortier et pilon.	En porcelaine.	3 602,1251 DA.	2	3 602,1251 DA.
Incubateur 20 L.	Capacité : 20 L Chambre et Porte intérieure vitrée : visibilité des échantillons à l'intérieur sans ouvrir la porte. T _A = +5C° à 65C°.	30 000 DA.	1	30 000 DA.
Balance de précision.	Balance magnétique.	18 970,24 DA.	1	18 970,24 DA.
Agitateur	A hélice pour laboratoire numérique 20L-40 L.	16 208,847 DA	1	DA.
Spectrophotomètre (UV/visible).	-Écran tactile couleur — Fonctions : absorbance, transmittance, concentration.	1 473 193,70 DA.	1	1 473 193,70 DA.
Etuve de 80 à 200°C.	contrôle de T(c°) par microprocesseur.	73 659,148 D A.	1	73 659,148 DA.
Micropipette.	De 10-100ul.	13 518,945 DA.	4	54 07 5,78 DA.
Pipette a graduée.	Pipette graduée en polystyrène stérile 15 ml Transparente et peu fragile.	1 206,26 DA.	6	7 237,56 DA.
Fioles jaugées - classe A – bouchées.	Verre Borosilicaté 3.3 – Col rodé – Bouchon en polypropylène.	10 588,053 DA.	3	31764,159 DA.
Eprouvette.	graduée à bec - verre borosilicaté 3.3 - 250 ML.	2 617,00 DA	8	20 936 DA.
Portoir.	Niveau pour tube de 16mm - 62 tubes.	2 235,4248 DA.	7	15 647,94 DA

Plateau pour paillasses.	sans paroi de fond, Plateau en verre opaline de 6 mm d'épaisseur, Verre trempé émaillé, étanche.	106 393,48 DA.	6	638 360 DA.
Entonnoir.	tige longue, verre borosilicaté.	701,86 DA.	3	2 105,58 DA.
Bec benzène.	Bec Bunsen simple pour gaz butane ou propane.	13 167,92 DA.	3	39 503,76 DA.
Verre de montre.	VERRE DE MONTRE BORD RODE D=80MM VERRE BORO - PACK 10.	662,4DA.	6 boites.	3 974,4 DA.
Erlenmeyer.	(FIOLE CONIQUE COL ETROIT PYREX 1L).	6 227,00 DA	9	560 493 DA.
Ampoule à Décanter.	Ampoule graduée. (SQUIBB) rob. Téflon 250 ml.	8 739,64DA.	4	34 958,56 DA.
Chronomètre.	digital 1/100e sec.	5 060 DA	2	10 120 DA.
Trousse de dissection.	//////////	7 047,73DA.	1	7 047,73DA
Centrifugeuse.	//////////	148 465,63 DA.	1	148 465,63 DA.
Lampe torche.	//////////	4 438,83 DA.	1	4 438,83 DA.
Bureau.	Simple Maison Bureaux D'ordinateur de Bureau Table D'étude En Bois Avec Chaises En Gros.	146 076,83 DA.	5	730 384,15 DA.
Ordinateur.	Fixed Stand Base Desktop PC i3 i5 i7 i9 rtx 2080 All-In-One Computer.	74 248,60 DA.	4	296 994,4 DA.
Imprimante.	MJ8330 80mm imprimant Wi-Fi LAN RS232 BT USB Price Ticket impresora portrait Printer Thermal POS Receipt 80 mm plug Printer.	35 900 DA.	1	35 900 DA.
Chaises.	//////////	52 626,08DA.	11	578 886,88 DA.
Poubelle.	//////////	4 281,55 DA.	4	21 407,75 DA.
Armoire.	Du labo.	156 988,45 DA.	3	627 952 DA.
Spatule.	Spéciale au laboratoire.	4 109,85 DA.	2	8 219,7 DA.
TOTAL du matériel				9 385 160,159 DA.

Tableau 2: Les matières premières du laboratoire :

Equipement :	Description :	Prix unitaire :	Nombre d'unité :	Prix d'achat :
Les boites de pétrie.	De 6 ergots - Ø 55 mm - En plastique stérile.	839,512 DA.	100	83 951,2 DA.
Pipette pasteur.	3 ml graduée 0.50 propres – PACK 500.	4 013,26 DA.	15	60 198,9 DA.
Pissette d'eau distillée.	3 capacités au choix : 250,500 et 1000 ml.	594,36 DA.	20.	11 887,2 DA.
Les lames.	Boite de 50 unités.	3 650 DA.	2	7 300 DA.
Seringues.	de 1 ml à 5 ml.	6 596,51 DA.	30	197 895 DA.
Solution de NaOH.	NaOH (10 %).	5 319,13 DA.	100 de 1000 ml.	531 913 DA.
Soluté isotonique de Na CL.	A 0,9%.	2 955,53 DA.	30 (1000 ml).	88 665,9 DA.
Bande de fixation.	microporeuse adhésives hypoallergénique.	1 150,68 DA.	50	57 534 DA.
Boules de coton Pure.	Sachet de 700 boules de coton.	1 210,74 DA.	80	96 859,2 DA.
Les embouts.	//////////	2 970,85 DA.	20	59 417 DA.
Lunettes de sécurité.	Mamba 1.	1 594,07 DA.	6	9 564,42 DA.
Statif de laboratoire.	En métal.	8 544,42 DA.	5	42 722,1 DA.
Goupillons pour ballons et flacons.	//////////	1 969,19 DA.	5	9 845,95 DA.
Stylos.	Bleu, noire ; à bille.	865 DA.	2 boites.	1 730 DA.
<i>Extincteur.</i>	Poudre Classe ABC 50kg Sur Chariot.	111 DA.	2	222 222 DA.
Agrafeuse.	Vertex.	4 200,00 DA	2	8 400 DA.
TOTAL du matériel première.				1 490 105,87 DA.

Plan Marketing:

On a calculé aussi l'amortissement du matériels, les salaires, l'assurance, le loyer, le transport, la rénovation du local, l'eau, l'électricité durant la première année de notre activité.

Le business plan ci-dessous contient tous les détails concernant les différents couts de notre entreprise :

Produit :

Analyse toxicologique.	Analyse microbiologique.	Analyses physico-chimiques.	Consultation téléphoniques.
Bonne qualité.	Bonne qualité.	Bonne qualité.	Bonne qualité.

Prix:

Produit :	Analyse toxicologique.	Analyse microbiologique.	Analyses physico-chimiques.	Consultation téléphoniques.
Prix :	3 000 DA.	2 500 DA.	2 000 DA.	1 000 DA.

Place:

Le montant de location de cette laboratoire est estimé à : 450 000 DA.

Loyer.	450 000 DA
--------	------------

Promotion:

Type de publicité :	Détails :	Couts :
Page Facebook.		0 DA.
Carte de visite.		15 000 DA.
Radio.		6 000 DA.

Le cout du Besoins en personnel :

Poste:	Qualification:	Salaire brut par mois :
1 Directeur.	Diplôme en chimie.	33 000 DA.
2 Toxicologue.	Diplôme en toxicologie.	27 000 DA.
3 Pharmacien.	Diplôme en pharmacie.	26 000 DA.
4 Microbiologiste.	Diplôme en microbiologie.	24 000 DA.
5 Secrétaire.	Diplôme en informatique.	18 000 DA.
6 Agent de sécurité.	-	15 000 DA.

Coût total mensuel des salaires : 143 000 DA.

Coût total annuel des salaires : 1 716 000 DA.

Calcul prévisionnelle des différents couts de l'entreprise :

Les charges fixes :	
Matériel.	9 385 160,159 DA.
Loyer.	450 000 DA.
Le Besoins en personnel.	1 716 000 DA.
Rénovation du local.	820 000 DA.
Total des charges fixes.	12 371 160,2 DA.
Les charges variables :	
Matière première.	1 490 105,87 DA
Autres charges (Electricité, eau).	114 000 DA.
Total des charges variables.	1 604 105,87 DA.
Montant global du projet.	13 975 266,1 DA.

9. Revenue streams :



SOURCES DU CAPITAL DE DEMARRAGE:

Capital de démarrage nécessaire :

* C : Capital de démarrage nécessaire : C = 13 975 266,1 DA.

Sources du capital de démarrage :

* D : Sources du capital de démarrage : D = 13 975 266,1 DA.

Tableau des bénéfices (1^{ère} année) :

Les charges de l'entreprise :	Valeur totale des services:	Bénéfice net :
13 975 266,1 DA.	14 688 799 DA.	713 532,9 DA.

<p><u>5. Key partners:</u></p> <p>-L'université. -Industrie pharmaceutique. - ASSF. -NADE.</p>	<p><u>6. Key activities:</u></p> <p>-Analyses : toxicologiques. microbiologiques. physico-chimiques. -Consultation téléphoniques.</p>	<p><u>1. Value proposition:</u></p> <p>Création d'un laboratoire de toxicologie : TOXLAB adopte un système basée sur le Cloud.</p>	<p><u>3. Customer Relationship:</u></p> <p>-Des promotions . -VIP clients. -Avoir une bonne réputation dans le marché pour gagner la confiance des clients. -Consultation téléphoniques.</p>	<p><u>2. Customer segments:</u></p> <p>Secteur de santé : Professionnels de santé. Secteur de science : écoles, associations, laboratoire de recherche. Autres : personnes alcooliques, industries pharmaceutiques...</p>
<p><u>8. Cost structure:</u></p> <p>Matériel=9 385 160,159 DA. loyer=450 000 DA. Besoin en 6 personnes=1 716 000 DA. Rénovation du local=820 000 DA. Matière première=1 490 105,87 DA Autres charges (Electricité, eau)=114 000 DA. Les charges de l'entreprise =13 975 266,1 DA.</p>			<p><u>9. Revenue streams :</u></p> <p>bénéfices (1^{ère} année) Bénéfice net =713 532,9 DA.</p>	

La conception (dessin) en 2D :

Afin de bien organiser notre laboratoire, nous avons choisi le plan suivant, sur une surface 120 m².

- Entrée principale.
- Salle d'accueil pour les clients.
- 2 chambres d'analyses : microbiologiques, physico-chimiques et toxicologiques des produits cosmétiques.

- 1 chambre de consultations téléphoniques.
- Chambre de directeurs.
- Toilette.

Le schéma suivant (dessin) explique l'organisation de notre plan, qui a fait par demande et qui respecte tous les énoncés souvent expliqués dans notre BMC.

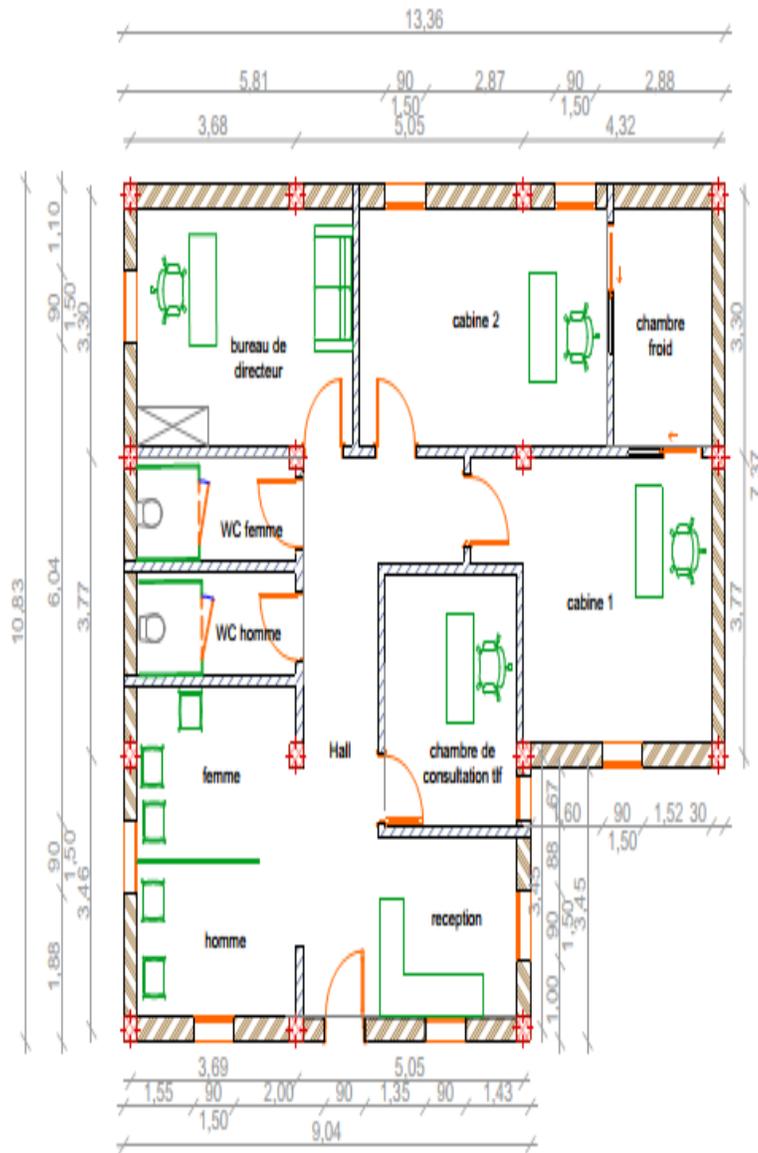


Figure: conception en 2 dimensions de TOXLAB.

ملخص :

في هذه الأطروحة ، سنناقش موضوع التحاليل الكيميائية والسمية للأدوية وأهميتها في إدارة التسمم. نتيجة لذلك، تم وصف كيفية الكشف عن المواد السامة في البيئات البيولوجية وكيفية قياسها لتحديد تركيزاتها السامة باستخدام تقنيات مختلفة. بهدف الكشف في الوقت المناسب عن سمية الأدوية للمرضى الذين يتناولون أدوية للأمراض المزمنة، و المرضى الذين يعانون من الإدمان لتجنب حالات التسمم لدى الأطفال والبالغين. كما يجب أن تكون الأساليب موثوقة وسريعة لتلبية الطلب على حالات الطوارئ.

الكلمات المفتاحية: الكيمياء - علم السموم - التحاليل الكيميائية - الادوية - المخدرات.

Abstract :

In this dissertation, we will discuss the topic of chemical and toxicological analyses of drugs and their importance in the management of poisonings. As a result, we have been described how to detect toxic substances in biological media and how to measure them to determine their toxic concentrations using different techniques. With the aim of detecting in time the toxicity of drugs for patients who take drugs for chronic pathologies, patients suffering from addiction to avoid poisoning in children and adults. Also the methods must be reliable and fast to meet the demand for emergencies.

Keywords: Chemistry - Toxicology - Chemical Analyses - Drugs.

Résumé :

Dans ce mémoire, nous aborderons le thème des analyses chimiques et toxicologiques des médicaments et de leur importance dans la prise en charge des intoxications. De ce fait, on a décrit comment dépister dans les milieux biologiques les substances toxiques et comment les doser pour déterminer leurs concentrations toxiques en utilisant différents techniques. Avec objectif de déceler à temps la toxicité des médicaments pour les patients qui prennent des médicaments pour des pathologies chronique, les patients qui souffrent d'addiction afin d'éviter les cas d'empoisonnement chez les enfants et les adultes. Aussi les méthodes doivent être fiable et rapide pour répondre à la demande d'urgences.

Mots-clés : Chimie - Toxicologie - Analyse chimique – Médicaments- drogues.