

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB-BLIDA-1-



FACULTÉ DE MÉDECINE  
DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

**ETUDE THÉRAPEUTIQUE, IDENTIFICATION ET  
CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE D'UNE SUBSTANCE  
PHARMACEUTIQUE ACTIVE (LA PÉNICILLINE V)**

Thèse d'exercice de fin d'études

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie.

Session Juillet 2017

Présentée par :

- AZOUZ Imane.
- BENDOUMIA Mouna.
- BOUAFIA Somia.

Devant le jury :

- |  |  |
|--|--|
| ▪ <b>Présidente:</b> Dr. BENHAMIDA.S,      | Maître assistante en Pharmacologie.        |
| ▪ <b>Examinatrice :</b> Pr. BENGUERGOURA.H | Maître de conférence B en Chimie physique. |
| ▪ <b>Examineur :</b> Dr. MAAMRI.K          | Maître assistant en Toxicologie.           |
| ▪ <b>Promotrice :</b> Dr. GUERFI.B         | Maître assistante en Chimie Thérapeutique. |

## REMERCIEMENTS

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profond respect ainsi que notre gratitude à Dr. GUERFI. B, maître assistante en Chimie Thérapeutique, de nous avoir encadré durant la réalisation de ce travail. Ses conseils, sa patience, sa disponibilité et son aide nous ont été très précieux.*

*Nos remerciements s'adressent au présidente du jury Dr. BENHAMIDA. S, ainsi qu'aux membres du jury Dr. MAAMRI. Ket Pr. BENGUEURGOURA. H de l'intérêt et du temps qu'ils nous ont accordés en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous éprouvons notre vive reconnaissance à tous le corps enseignant du département de Pharmacie qui a contribué à notre apprentissage durant les six années de formation que comprend le cursus d'études en Pharmacie.*

*Nos vifs remerciements et gratitude vont également au chef du laboratoire de contrôle de qualité du complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL de MÉDÉ de nous avoir honoré en acceptant l'accès au laboratoire.*

*Sans oublier monsieur BOUAFIA Nour El Ddine et tout le personnel de complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL de MÉDÉ qui nous ont apporté une aide considérable durant la réalisation de ce travail.*

*Enfin, nous tenons tout particulièrement à remercier nos parents de leur soutien durant tous nos années d'études.*

## Dédicaces

*Je remercie Allah de m'avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma chère mère que j'adore.*

*A mon père, école de mon enfance, qui a été ombre protectrice durant toutes les années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à m'aider et à me protéger.*

*A mes très chères sœur : Fadhila, Fathia, Asya, Nawel, Dallah qui ont toujours été là pour moi, que Dieu les garde et les protège.*

*A mon cher frère : Mohamed Habib qui m'a toujours soutenue.*

*A mes neveux : Mayssa, Rayane, Ines, Ritadj, Roaya qui ont fait la joie de la famille*

*A ma 2<sup>ème</sup> bellefamille : mon fiancé, yemaChrifa et tanto Kader qui m'ont soutenue moralement et encouragé pour mon plein succès.*

*A mes meilleurs amis : Asma, Aya, Hanane, Mouna, Soumaya,*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*Azouz Imane*

## *Dédicaces*

*Merci Allah (Mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*A ma très chère et douce mère :*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as pas cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon très cher père :*

*Affable, honorable, aimable. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

*A mes chères sœurs : Houda, Djalila, Mérièm et à mes très chers frères : Mohamed et Mouradha youcef amine .*

*A toute ma famille, en particulier mon grand-père et mes grandes-mère, mon oncle Rédha et sa femme, mes tantes, mes oncles.*

*A tous mes amis, en particuliers: Imane Herzallaoui, Hadjer, Khadija, Nour El Houda, Fatima, Khadija, Nassrine et Imane Azouz, Somia et mes collègues d'étude.*

*A tous ceux qui me sont chers.*

*A tous ceux qui m'aiment.*

*A tous ceux que j'aime.*

**BENDOUMIA Mouna**

## Dédicaces

*Je tiens d'abord à remercier mon dieu le tous puissant de m'avoir donné le courage et la volonté d'élaborer ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de toutes mes années d'études à :*

*Mes très chers parents, que Dieu me les gardes, que je ne saurai jamais les remercier pour tout ce qu'ils m'ont apporté, pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour faire de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*Mes très chers frères : Mostapha, Noureddine, Abd Rezek, Rachid, Zoufir*

*Mes chères sœurs : Masouda, Houria*

*Mes neveux : Sara, Ritdj, Hiba, farah, Abd wahab , Souhaib.*

*Tous ceux qui auront l'occasion de lire ce travail.*

*Enfin toutes les personnes qui j'espère m'excuseron de ne pas les avoir mais que je les aime quand même.*

*Bouafia Somia*

# TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>I. GÉNÉRALITÉS.....</b>	<b>2</b>
<b>I .1. LES INFECTIONS .....</b>	<b>2</b>
I.1.1. Infection bactérienne.....	2
I.1.2. Infection virale.....	3
I.1.3. Infection parasitaire.....	3
I.1.4. Infection fongique.....	4
<b>I.2. MÉCANISME DE PATHOGÉNICITÉ DES BACTÉRIES .....</b>	<b>5</b>
I.2.1. Pénétration des agents bactériens dans l'organisme.....	5
I.2.2. Mode de transmissions des infections bactériennes.....	5
I.2.3. Physiopathologie des infections bactériennes.....	6
<b>I.3. VACCINATION ET ANTIBIOTHÉRAPIE .....</b>	<b>8</b>
I.3.1. Vaccination.....	8
I.3.2. Antibiothérapie.....	8
<b>II. LES ANTIBIOTIQUES.....</b>	<b>10</b>
II.1. DÉFINITION.....	10
II.2. RECENSION DE LITTÉRATURE.....	10
II.3. MODE D'ACTION .....	12
II.2.1. Accès des antibiotiques à leur cible (les conditions).....	12
II.2.2. Mécanisme d'action des antibiotiques.....	12
II.3. CLASSIFICATION.....	15
<b>III. LES BÊTALACTAMINES.....</b>	<b>19</b>
III.1. DÉFINITION .....	19
III.2. CLASSIFICATION.....	19
III.3. ORIGINE DES BÊTALACTAMINES.....	21
III.4. MÉCANISME D' ACTION.....	21
<b>IV. LES PÉNICILLINES.....</b>	<b>23</b>
IV.1. DÉFINITION .....	23
IV.2. NOMECLATURE.....	23
IV.3. CLASSIFICATION .....	23

IV.4. RELATION STRUCTURE-ACTIVITÉ.....	25
V. ETUDE DE LA PÉNICILLINE V .....	28
V.1. DÉFINITION.....	28
V.2. FORMULE ET STRUCTURE CHIMIQUE.....	28
V.3. NOMENCLATURE ET DÉNOMINATIONS.....	29
V.3.1. Dénomination scientifique selon l'UPAC .....	29
V.3.2. Dénomination Commune Internationale (DCI).....	29
V.3.3. Numéro d'enregistrement (CAS ).....	29
V.3.4. Noms déposés (commerciales) de la pénicilline V .....	29
V.3.5. Autres systèmes de dénomination .....	29
V.3.6. Sels et dérivés .....	30
V.4. MODE D'OBTENTION .....	30
V.4.1. Obtention de la pénicilline V par voie biosynthétique (fermentation) .....	30
V.4.2. Synthèse chimique de la pénicilline V (méthode classique) .....	31
V.5. PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA PÉNICILLINE V .....	33
V.6. RELATION STRUCTURE ACTIVITÉ .....	34
V.7. ETUDE PHARMACOLOGIQUE DE LA PÉNICILLINE V .....	35
V.7.1. Pharmacocinétique.....	35
V.7.2. Pharmacodynamie .....	36
V.7.3. Mécanisme d'action de la pénicilline V .....	37
V.7.4. Indications et utilisation clinique.....	39
V.7.4.1. Indications de la pénicilline V .....	39
V.7.4.2. Les formes pharmaceutiques de La pénicilline V .....	39
V.7.5. Mode d'administration et posologie.....	40
V.7.5.1. Mode d'administration .....	40
V.7.5.2. Posologie .....	41
V.7.6. Précaution d'emploi, effets indésirables et contre-indication de la pénicilline V .....	42
V.7.7. Interactions médicamenteuses .....	43
V.7.8. Grossesse et allaitement.....	43

## ETUDE EXPERIMENTALE

### IDENTIFICATION ET CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE DE LA PENICILLINE V

ACIDE MATIÈRE PREMIÈRE .....	44
I. CARACTÈRES.....	44
I.1. Caractères organoleptiques .....	44
I.2. Cristallinité.....	45
I.3. Solubilité .....	45
I.3.1. Définition .....	45
II. IDENTIFICATION .....	47
II.1. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge .....	47
II.2. Identification de Pénicilline V acide par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge .....	50
III. ESSAIS LIMITÉS DE LA MATIÈRE PREMIÈRE.....	53
III.1. Détermination de potentiel d'hydrogène (pH) .....	53
III.2. Détermination de la teneur en eau.....	54
III.3. Dosage des substances apparentées dans la matière première .....	57
III.3.1. Impuretés dans la matière première.....	57
III.3.2. Chromatographie liquide à haute performance ( CLHP ou HPLC) .....	59
III.3.3. Dosage pratique des substances apparentées.....	61
IV. DÉTERMINATION DU TITRE DE PÉNICILLINE V ACIDE ET DE L'IMPURETÉ 4-HYDROXYÉNICILLINE V PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE .....	65

## RESULTATS ET DISCUSSION

### IDENTIFICATION ET CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE DE LA PENICILLINE V

ACIDE MATIÈRE PREMIÈRE .....	69
I. CARACTÈRES.....	69
I.1. Caractères organoleptiques .....	69
I.2. Solubilité.....	69
I.3. Cristallinité.....	70
II. Identification.....	70
III. ESSAIS LIMITÉS DE LA MATIÈRE PREMIÈRE.....	73
III.1. Détermination de Potentiel d'hydrogène (pH) .....	73
III.2. Détermination de la teneur en eau .....	73
III.3. Dosage des substances apparentées :.....	74



IV. DÉTERMINATION DE TITRE DE LA PÉNICILLINE V ACIDE ET DE L'IMPURITÉ  
4 -HYDROXPÉNICILLINE V DANS LA MATIÈRE PREMIÈRE :..... 76  
CONCLUSION ..... 81

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**AA** : acide aminés.

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique.

**AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché.

**ARN** : Acide Ribo Nucléique.

**ARN<sub>m</sub>** : Acide RiboNucléique messenger.

**ARN<sub>t</sub>** : Acide RiboNucléique traduction .

**ASCII** : American Standard Code for Information Interchange.

**AUC<sub>Ech</sub>** : Surface sous la courbe ou Area Under Curve d'Echantillon.

**AUC<sub>STD</sub>** : Surface sous la courbe ou Area Under Curve d'Echantillon.

**B-hémolytique** :béta-hémolytique.

**β-lactamines** : bétalactamines.

**β-lactame**: beta-lactame.

**C**: Carbone.

**C°** :Degré Celsius.

**CAS** : Chemical Abstract Service.

**Cd<sup>++</sup>** : ion de Cadmium.

**C<sub>Ech</sub>** : Concentration de l'Echantillon.

**cm<sup>-1</sup>** : centimètre.

**C<sub>STD</sub>** : Concentration de la solution standard.

**Cu<sup>++</sup>** : ion de Cuivre.

**D-Ala-D-Ala** : D-Alanyl-D-Alanine.

**DCC** : DiCyclohexylCarbodiimide.

**DCI** : Dénomination Commune Internationale.

**DTGS** :Sulfate de triglycine deutériée.

**EC Number** : Européan Community Number.

**Fe<sup>+++</sup>** : ion de fer.

**FTIR** : Spectromètres à transmission de Fourier.

**g**: gramme.

**g/mol** : gramme/mol.

**Gram<sup>-</sup>** : Gram négatif.

**Gram<sup>+</sup>** : Gram positif.

**Gx100** : grossissement 100.

**Gx40** : grossissement 40.

**H** : Hauteur.

**H<sup>+</sup>** : ion d'Hydrogène.

**HCl** : Chlorure d'Hydrogène.

**HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

**ICH** : harmonisation international des normes.

**IR** : Infra Rouge.

**ISO** : International Standard Organisation.

**IUPAC**: International Union Of Pure and Applied Chemistry.

**K** : potassium.

**KBr** : Bromure de potassium.

**KCl** : Chlorure de potassium.

**KF** : karl Fischer.

**L** : Longueur.

**LCR** : Liquide Céphalo Rachidien.

**LiTaO<sub>3</sub>** : tantalate de lithium.

**M** : mol.

**mg**: milligramme.

**mg/l** : milligramme/litre.

**ml** : millilitre.

**ml/min** : millilitre/minute.

**MP.cm<sup>-2</sup>** : matière première par centimètre carrée.

**N** : normalité.

**N** : Nombre de plateaux théoriques.

**N**: azote.

**Na** : Sodium.

**NAG** : N-Acétyl- Glucosamine.

**NAM** : acide N-Acétyl-Muramique.

**NaOH** : hydroxyde de sodium.

**O**: oxygène.

**P** : poids.

**PABA** : acide para-aminobenzoïque.

**Pb<sup>++</sup>** : ion de plomb.

**PG**:Peptidoglycane .

**pH** : Potentiel Hydrogène.

**PLP** : les Protéines Liant les Pénicillines.

**PM** : poids moléculaire.

**Q** : quantité.

**RAA** : Rhumatisme Articulaire Aigue.

**R<sub>s</sub>** : La résolution.

**RSD** : écart type.

**S. pyogenes** : Streptococcus pyogenes.

**SMILE canoniques** : Simplified Molecular Input Line Entry Specification.

**SMILES** : Simplified Molecular Input Line Entry Specification.

**T** : teneur.

**UI** : Unité Internationale.

**UI/kg** : Unité Internationale/kilogramme.

**UI/kg/jour** : Unité Internationale/ Kilogramme/jour.

**UNII** : Unique Ingrédient Identifier.

**USP** :Pharmacopée de United State.

**UV** : Ultra-Violet.

**V** : volume.

**Zn<sup>++</sup>** : ion de zinc.

**®** : Marque déposée.

**α** : alpha.

**μl**: micro litre.

**μm** :micro mètre.

**δ** : Largeur du pic à mi-hauteur.

**ω** : Largeur du pic à la base.

## LISTE DES FIGURES

Figure N°1 : L'Adhésion bactérienne .....	7
Figure N°2: Mode d'action des antibiotiques.....	12
Figure N°3 : Structure des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.....	22
Figure N°4: Structure générale des pénicillines .....	23
Figure N°5: Dégradation de pénicilline en milieu acide .....	26
Figure N°6 : Dégradation de pénicilline en milieu alcalin.....	27
Figure N°7: Dégradation de l'acide pénicilloïque sous l'influence des sels mercuriques .....	27
Figure N°8 : Formule chimique développée de la pénicilline V .....	28
Figure N°9 : Optimisation tridimensionnelle de structure de pénicilline V acide .....	28
Figure N°10:Obtention de l'Isopénicilline N .....	31
Figure N°11 : Substitution de la chaîne latérale.....	31
Figure N°12:Obtention des peptides et la séparation du diastéréoisomère.....	32
Figure N°13 : La formation de la pénicilline V.....	32
Figure N°14 : Relation structure activité de la pénicilline V acide.....	34
Figure N°15 : Structure de peptidoglycane .....	37
Figure N°16 : Structure tridimensionnel de peptidoglycane .....	37
Figure N°17 : Structure de D .alanyl – D- alanine et pénicilline V (analogie structural ).....	38
Figure N°18 : Mécanisme d'action de la pénicilline V .....	38
Figure N°19 : Domaines du spectre électromagnétique.....	49
Figure N°20:Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR .....	51
Figure N°21 : Dosage de l'eau par la méthode de K.Fischer.....	56
Figure N°22 : Schéma de principe d'une chaîne d'HPLC .....	59
Figure N°23: Appareil d' HPLC à injecteur automatique.....	60
Figure N°24 :Aspect de la pénicilline V acide.....	69
Figure N°25: Solubilité dans l'eau distillée .....	69
Figure N°26 : Solubilité dans l'éthanol 96° .....	69
Figure N°27: Solubilité dans l'acétone .....	69
Figure N°28 : Spectre IR de la pénicilline V acide standard USP .....	71
Figure N°29 : Spectre IR réalisé avec la matière première de pénicilline V acide .....	71

<b>Figure N°30</b> : Superposition du spectre IR de la substance de référence et du spectre de la pénicilline V acide.....	72
<b>Figure N°31</b> : La mesure du pH de la matière première .....	73
<b>Figure N°32</b> : Chromatogrammes de la solution standard de l'acide phénoxyacétique à 0,1mg /ml.....	74
<b>Figure N°33</b> : Chromatogramme de la solution à examiner à 20mg/ml .....	75
<b>Figure N°34</b> : Chromatogramme de la solution de résolution à 2.5mg/ml .....	76
<b>Figure N°35</b> : Chromatogrammes de la solution standard de pénicilline V-K USP à 2.5mg /ml.....	77
<b>Figure N°36</b> : Chromatogramme de la solution standard de 4-hydroxypénicillineV à 0.1mg/ml.....	78
<b>Figure N°37</b> : Chromatogramme de la solution à examiner à 2.5mg/ml .....	79

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau N°1:</b> Classification et mode d'action des antibiotiques .....	18
<b>Tableau N°2 :</b> Sels et dérivés de la pénicilline V .....	30
<b>Tableau N°3:</b> Quelques spécialités de la pénicilline V .....	40
<b>Tableau N°4 :</b> Précaution d'emplois, effets indésirables et contre- indications de la pénicilline V .....	42
<b>Tableau N°5:</b> Classes de solubilité décrites par la pharmacopée européenne 8 <sup>ème</sup> édition.2014 .....	46
<b>Tableau N°6:</b> les conditions chromatographiques pour le dosage des substances apparentés(acide phénoxyacétique) .....	63
<b>Tableau N°7:</b> les conditions chromatographiques pour la détermination du titre de la pénicilline V acide et le dosage de 4-hydroxypénicilline V .....	67
<b>Tableau N°8 :</b> Résultats de la vérification du qualité de séparation .....	76



# INTRODUCTION

Une infection désigne l'invasion puis la multiplication de microorganismes au sein d'un organe du corps vivant. Une maladie infectieuse apparaît quand la virulence du microbe dépasse les moyens de défense de l'individu donc provoque un changement qui altère l'état de santé.

Les bactéries pathogènes doivent en premier lieu pénétrer dans l'organisme hôte, coloniser et adhérer aux tissus, échapper du système immunitaire et enfin altérer les tissus qui provoquent une infection bactérienne.

L'antibiothérapie désigne un traitement médicamenteux qui implique l'utilisation des antibiotiques. Elle est indiquée dans les infections bactériennes dans un cadre curative ou préventive.

Les antibiotiques sont des agents antibactériens d'origine biologique, hémi synthétique ou synthétique qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries.

La pénicilline V est un antibiotique appartient à la famille des bêtalactamines du groupe de pénicilline naturelle. Cette molécule prend sa place dans l'éventail des produits antibactériens actuellement disponible. Elle est limitée aux infections dues aux germes définis comme sensibles, elle est de spectre bactérien étroit.

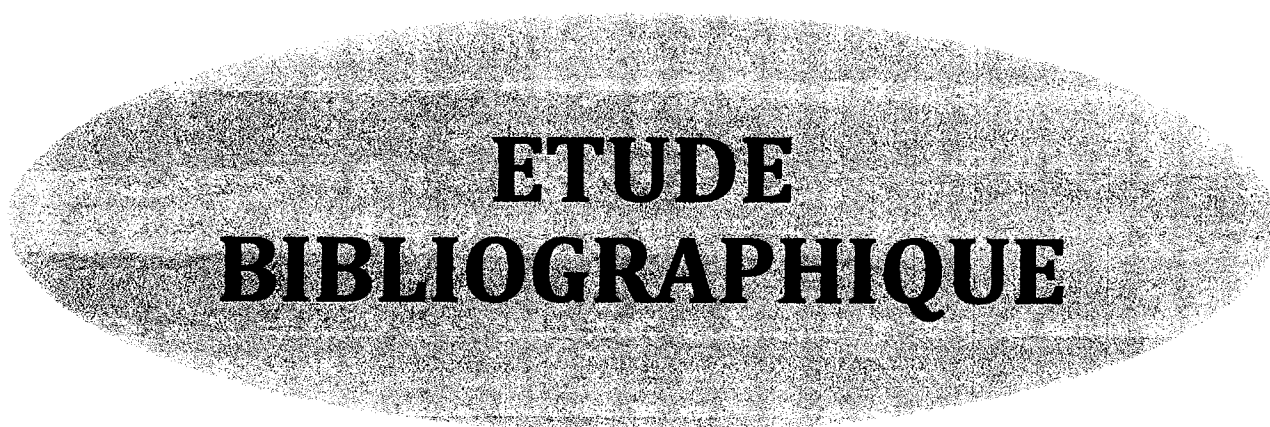

Notre travail s'articule sur deux parties principales à savoir :

**Partie bibliographique** : qui traite cinq chapitres, le premier comporte des généralités sur les infections, le deuxième est lié aux antibiotiques et leurs mécanismes d'action, le troisième traite les bêtalactamines, le quatrième est lié aux pénicillines et leur propriétés et le cinquième est consacré à l'étude de la pénicilline V.

**Partie expérimentale** : dans laquelle nous proposons une identification et un contrôle de la qualité physico-chimique de la pénicilline V acide matière première, par rapport aux normes définies dans la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition.

A cet effet plusieurs méthodes physiques et chimiques ont été appliquées, ainsi que des techniques d'analyses sont proposées, notamment la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et la chromatographie liquide à haute performance HPLC.

Cette expérimentation a eu lieu au sein du laboratoire de contrôle de qualité **du complexe ANTIBIOTICAL SAIDAL de MÉDÉA** sur une période d'un mois.



**ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

### **I. GÉNÉRALITÉS :**

#### **I.1.LES INFECTIONS :**

Une infection est due à l'invasion et la multiplication au niveau d'un site de l'hôte sain de micro-organismes pathogènes tel qu'une bactérie, virus, parasite, champignon. Elle résulte de la rupture de l'équilibre qui existe entre le germe et l'hôte. Ce déséquilibre provient donc soit d'une diminution des défenses du sujet soit d'un accroissement de virulence des germes. (28,25)

Les micro-organismes font partie de l'environnement, qui en constitue le réservoir, air, sol, eau, aliments, animaux, individus infectés et à partir duquel se fait la contamination.

Les micro-organismes, dits commensaux, sont hébergés normalement par l'homme au niveau des cavités naturelles et de la peau. Les saprophytes réalisent même une symbiose bénéfique pour l'hôte. Les micro-organismes dits pathogènes sont capables de provoquer une maladie chez l'hôte. D'autres dits opportunistes sont naturellement peu ou pas virulents ; elles sont observées chez des individus atteints d'anomalies de la résistance à l'infection. (17)

Une maladie infectieuse chez un hôte résulte d'un changement provoqué par l'invasion et la multiplication d'un microorganisme pathogène, elle se manifeste par des altérations anatomiques ou fonctionnelles, par des manifestations cliniques et biologiques, très variables selon l'espèce animale et selon le micro-organisme lui-même. Les conséquences de cette maladie peuvent être bénignes, sévères ou mortelles. (17)

##### **I.1.1.Infection bactérienne :**

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1  $\mu\text{m}$ . Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). (8)

L'infection bactérienne est l'invasion et la multiplication d'une bactérie pathogène au niveau d'un site de l'hôte. (24)

Les bactéries pathogènes sont capables de provoquer une maladie (en changeant la structure ou le fonctionnement normal de l'hôte) en infectant leur hôte, ce changement chez l'hôte, qui se manifeste par une série de symptômes, peut être lié aux effets des métabolites microbiens,

comme les toxines, ou à la réaction immunitaire de l'hôte activée par la présence de la bactérie. La douleur, la fièvre, la rougeur et la tuméfaction sont les symptômes les plus fréquents.(24)

### **I.1.2. Infection virale :**

Les virus sont des agents infectieux de taille très inférieure à celle de la bactérie, variant de 20 à quelque centaine de micromètre observable uniquement au microscope électronique. Dont le génome est constitué d'un seul type d'acide nucléique (acide ribonucléique ARN ou acide désoxyribonucléique ADN) qui se produit à l'intérieur des cellules vivantes et qui utilise le mécanisme synthétique de ces cellules.(11,21,23)

Les virus sont des parasites intracellulaire. Les interactions virus- cellules peuvent conduire selon les cas à un cycle viral productif avec ou sans destruction cellulaire, à un cycle viral abortif, à la latence virale ou à la transformation cellulaire.(10)

Les infections virales peuvent dans leur ensemble toucher tout l'organisme. Néanmoins, chaque type de virus n'infecte qu'un nombre limité d'organes ou de tissus.(11)

La vaccination préventive est le moyen le plus efficace de limiter, voire de supprimer la diffusion et /ou la circulation d'un agent infectieux viral à l'échelle d'une population humaine. La variole a été ainsi éliminée totalement de la planète grâce à l'utilisation d'un virus vivant atténué. (21)

### **I.1.3. Infection parasitaire :**

Les parasites sont des êtres plus évolués relativement adaptés pour vivre aux dépens d'être organisés. Ils sont représentés par des êtres unicellulaire ou protozoaires et par d'autres pluricellulaires ou helminthes (considérablement plus nombreux que les protozoaires).(28)

Les parasitoses sont des infections provoquées par des parasites. Elles sont le plus souvent des pathologies chroniques, rarement foudroyantes, même en l'absence de traitement. Toutefois, il existe des exceptions majeures comme le paludisme à *Plasmodium Falciparum* qui peut être rapidement fatal. D'autres parasitoses habituellement « mineures » peuvent être à l'origine de formes disséminées létales chez les malades immunodéprimés (par exemple la toxoplasmose). Les maladies parasitaires sont souvent fréquentes dans les pays en voie de développement (zones tropicales). (42)

L'amélioration des conditions sanitaires est essentielle pour la prévention de la plupart des parasitoses. Le traitement par les antiparasitaires est habituellement un moyen insuffisant de contrôle de l'infection car le délai entre l'infestation et les manifestations cliniques est souvent très long. A cette raison la plupart des thérapeutiques antiparasitaires visent à prévenir les complications systémiques des infections chroniques. (42)

### **I.1.4. Infection fongique :**

Les champignons microscopiques appelés mycètes, plus précisément micromycètes, (champignons microscopiques par opposition aux macro-mycètes, visibles dans l'environnement) susceptibles de vivre en parasite chez l'homme et provoquent des maladies appelés mycoses. (13)

Les infections fongiques peuvent-être classés selon les parties des corps initialement atteintes, en mycoses superficielles qui sont limitées à la peau et aux cheveux ce sont des infections de gravités modérées, mycoses cutanées qui correspondent à la pénétration des champignons dans des sites plus profonds dans l'épiderme, mycoses sous-cutanées atteignent le derme et les tissus sous-cutanés et en mycoses systémiques correspondent à une dissémination aux organes profonds, souvent sévères ,survenant dans un contexte d'immunosuppression.(42,13)

Les mesures prophylactiques sont essentielles pour la prévention de la plupart des mycoses. Les médicaments anti fongiques sont peu nombreux, peu efficaces, et assez toxiques pour les êtres humains. Malgré ça quelques substances sont utiles dans le traitement de nombreuses mycoses importantes. Le traitement de divers types de mycoses est très différent. (42, 35)

### **I.2. MÉCANISME DE PATHOGÉNICITÉ DES BACTÉRIES :**

#### **I.2.1. Pénétration des agents bactériens dans l'organisme :**

Le corps possède différentes barrières contre la pénétration de microbes, mais Les germes peuvent pénétrer dans l'organisme par 5 des 7 orifices que nous possédons : le nez, la bouche l'orifice urinaire qui chez l'homme est également l'orifice par où sortent les sécrétions sexuelles, le vagin chez la femme et le rectum. A l'inverse : Les oreilles ne peuvent laisser passer les germes puisque le tympan est imperméable à moins qu'il ne soit percé, les yeux ne laissent pas passer de germes puisque c'est un globe totalement fermé, une lésion sévère suite à une inflammation de l'œil peut amener une infection secondaire de l'œil. (55)

#### **I.2.2. Mode de transmissions des infections bactériennes :**

Les bactéries pathogènes peuvent être d'origine animale, humain ou environnemental. La transmission des infections bactériennes est le plus souvent interhumaine. (8)

##### **❖ Transmission par l'air :**

La plupart des maladies bactériennes transmises par l'air impliquant le système respiratoire. C'est le cas de la diphtérie, la pneumonie, la tuberculose et la coqueluche, D'autres bactéries portés par l'air peuvent causer des maladies de la peau telle que la scarlatine, l'érysipèle ou des maladies systémiques telles que la méningite et le rhumatisme articulaire aigu. (35)

##### **❖ Transmission par contact direct :**

Les maladies bactériennes transmises par contact direct concernant en majorité la peau, les muqueuses, et les tissus sous-jacents. Comme exemple citons : la syphilis, les maladies staphylococcique, le tétanos, l'ulcère gastrique et la conjonctivite. (35)

##### **❖ Transmission par l'eau et les aliments :**

De nombreuses bactéries contaminant la nourriture et l'eau peuvent causer des maladies infectieuses. Ces maladies sont essentiellement de deux types : des infections ont lieu lorsqu'une bactérie pathogène pénètre dans le tube digestif et s'y multiplie. C'est le cas de la fièvre typhoïde, les infections à *Escherichia coli*, les gastro-entérites. Et les intoxications ont lieu suite à l'ingestion d'une toxine produite en dehors de l'organisme. C'est le cas du choléra, et du botulisme. (35)

### I.2.3. Physiopathologie des infections bactériennes :

#### ➤ **Pouvoir pathogène de la bactérie (pathogénie) :**

Pour qu'une bactérie puisse se multiplier et être pathogène, elle doit être capable de se transmettre entre les hôtes, d'envahir l'hôte et y demeurer, d'acquérir des nutriments et d'éviter ou de détruire le système immunitaire de l'hôte et possède la capacité de nuire à l'hôte, dans ce dernier le pouvoir toxigène joue un rôle majeur. Ces caractéristiques bactériennes sont dues à des facteurs de virulence. (24)

Les toxines produites par les bactéries sont de deux sortes : **les exotoxines** qui sont des protéines produits par des bactéries spécifiques, qui induisent un effet toxique sur l'hôte. **L'endotoxine** est la portion lipide A du lipopolysaccharide que l'on trouve à la surface des bactéries gram négatives, elle provoque un choc septique par l'activation du système immunitaire de l'hôte lorsqu'elle est présente dans le sang. (24)

La nature de l'hôte est un facteur important dans la pathogénie. Les bactéries capables d'infecter des hôtes normaux en bonne santé sont considérées comme de vrais pathogènes ; les pathogènes opportunistes ne provoquent des maladies que chez les hôtes initialement malades, Ces bactéries sont souvent des bactéries commensales qui vivent à la surface de la peau et des muqueuses de l'hôte.(24)

#### ➤ **La nature de la maladie bactérienne :**

On reconnaît deux catégories distinctes de maladies sur la base du rôle de la bactérie pathogène dans le processus provoquant la maladie : les infections et les intoxications. (35)

Une maladie infectieuse résulte de la multiplication bactérienne et à la réponse immunitaire de l'hôte, caractérisée souvent par des altérations cellulaires. Les intoxications sont des maladies qui résultent de l'entrée d'une toxine spécifique dans le corps de l'hôte. Les toxines peuvent même induire une maladie en l'absence de l'organisme producteur. (35)

Le type de maladie provoquée par une bactérie dépend du foyer infecté par cette bactérie. Elle peut être chronique ou aiguë. Les symptômes de la maladie dépendent du site d'infection, de la capacité de l'organisme à échapper au système immunitaire et des produits toxiques qu'il produit. (24)



Certaines bactéries sont capable de provoquée seulement une maladie. D'autres bactéries peuvent provoquées différentes maladies. Un exemple est le *Streptococcus pyogenes* (streptocoques B-hémolytique du groupe A), principale cause de l'angine. Cependant, certaine souche de *S. pyogenes* peut produire une exotoxine érythrogène qui cause l'exfoliation de la peau, cette maladie est très contagieuse. Dans des rares cas, les infections à *streptococcus pyogenes* peuvent provoquer un rhumatisme articulaire aigu« RAA » caractérisé par des lésions inflammatoires impliquant les valvules cardiaques, les articulations, et le système nerveux central. On pense que le RAA est due à des réactions auto-immunes en réponse aux antigènes présents à la surface des bactéries qui sont similaires à des antigènes de l'hôte. Le *Streptococcus pyogenes* peut provoquer l'érysipèle, qui est une infection aigue inflammatoire de la peau survient souvent chez l'enfant. Le traitement de choix de toutes ces maladies est les pénicillines naturelles dont la pénicilline V. (24, 35)

### ➤ Les étapes de processus infectieux :

- Pour coloniser la peau et / ou la muqueuse, les bactéries doivent d'abord y adhérer grâce à des protéines de surface, appelées adhésines. Les adhésines interagissent spécifiquement avec des récepteurs présents sur les cellules de l'hôte (le revêtement cutané-muqueux). (Figure N°1)

La spécificité de cette interaction explique, au moins en partie, le tropisme de certaines bactéries pour un site donné ou pour une espèce animale donnée. (8)

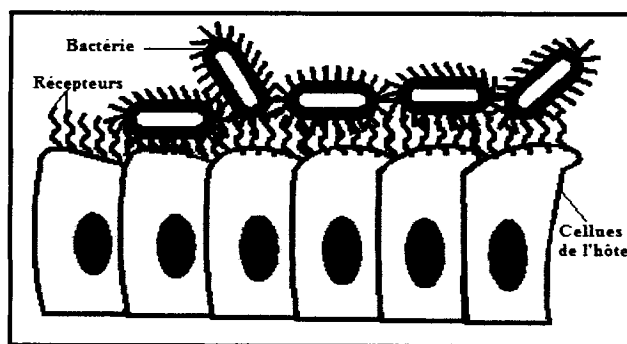


Figure N°1 : L'Adhésion bactérienne.

- L'invasion qui est l'entrée dans les cellules et les tissus de l'hôte, est une stratégie spécialisée assurant la survie et la multiplication de nombreuses bactéries pathogènes. Celles-ci peuvent s'introduire activement ou passivement dans l'épithélium de l'hôte après fixation sur la surface épithéliale. L'invasion est associée au développement d'une inflammation non spécifique au niveau de la porte d'entrée secondaire à la multiplication bactérienne (pneumonie, infection urinaire, angine...). (35)

- Une fois dans l'épithélium, l'agent pathogène peut atteindre des tissus plus profonds et continuer à se disséminer dans le corps de l'hôte. Pour y parvenir, la bactérie produit, par exemple des substances et /ou des enzymes spécifiques qui facilitent la propagation. Ces produits sont des facteurs de virulence. La bactérie peut également disséminer par voie sanguine ou lymphatique, une fois le système circulatoire sanguin atteint, la bactériopathogène a accès à tous les organes et tous les systèmes de l'hôte, pouvant provoqué une septicémie avec des infections secondaires possibles (endocardite, abcès profond, méningite...).(35)

### **I.3. VACCINATION ET ANTIBIOTHÉRAPIE:**

#### **I.3.1. Vaccination :**

Tous les microbes (vivants, atténués ou tués), des fractions de microbes ou des produits microbiens inactivés, peuvent être utilisés comme vaccins pour induire une réponse immunitaire spécifique chez un hôte. Ceci apporte une protection à long terme vis-à-vis de l'infection par ce microbe.(24)

La vaccination est prouvée pour être un moyen efficace de protection d'un individu et de la population contre un grand nombre de maladies bactériennes. Les vaccins ne sont pas disponibles pour toutes les infections bactériennes. (24)

#### **I.3.2. Antibiothérapie :**

L'antibiothérapie est le moyen thérapeutique, pour venir à bout d'une infection en utilisant un ou plusieurs médicaments anti-infectieux, appartenant à la classe des antibiotiques, et dont l'activité s'exerce contre les bactéries à l'origine de cette infection. L'antibiothérapie est soit préventive, soit prophylactique, dans ce cas il s'agit d'antibioprophylaxie. (74)

L'antibiothérapie est quelquefois également curative. Dans ce cas elle va permettre de combattre une infection existant déjà. L'antibiothérapie préventive a pour but de prévenir une surinfection bactérienne, d'éviter la survenue de multiplication des bactéries. L'antibiothérapie préventive est également utilisée avant une intervention chirurgicale, afin de diminuer le risque de survenue d'une infection susceptible d'apparaître après l'intervention, et quand un patient présente des symptômes indiquant qu'il ne possède pas les défenses immunitaires suffisantes pour venir à bout de l'agent infectieux. (74)

L'antibiothérapie est connue pour un grand bénéfice pour l'humanité et a permis aux gens de ne pas mourir de maladies comme la scarlatine streptococcique ou les infections de plaies.

Cependant il y a un grand problème, l'efficacité de l'antibiothérapie est menacée par le développement de résistance bactérienne aux antibiotiques et en particulier par la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques entre les bactéries.(24)

La pénicilline Vest un antibiotique qui prend sa place dans l'éventail des produits antibactériens actuellement disponible, administrée par voie orale. Elle est utilisée dans le traitement curatif et préventif des infections dues aux germes définis comme sensibles. (44)

## II. LES ANTIBIOTIQUES :

### II.1. DÉFINITION :

Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organismes, possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par héli-synthèse. (3)

Le terme antibiotique désigne toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant ( $\beta$ -lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides ), substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle (sulfamides ,quinolones ). (52,47)

Ainsi les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries. (8)

L'objectif de leur utilisation est de réduire l'inoculum bactérien présent dans le site infectieux renforçant ainsi le rôle des défenses immunitaires ; ce renforcement des capacités de défense du patient vis-à-vis de la bactérie pathogène définit l'antibiologie. (46)

### II.2. RECENSION DE LITTÉRATURE :

En 1729, **Micheli**, dans son ouvrage *Nova Plantarum Genera*, avait décrit les *Penicillium*, de même il est admis que le genre *Mucor crustaceus* de Linné (1742) regroupe certain *Penicillium*. Le genre *Penicillium* établi par **Link** en 1809 est un groupe de moisissures. (3)

En 1897, le médecin militaire **Ernest Duchesne** est le premier scientifique à découvrir que certaines moisissures peuvent neutraliser la prolifération des bactéries, mais cette découverte reste inexploitée. (66)

**Septembre 1928**, retour de vacances, le microbiologiste **Alexander Fleming** découvre que les cultures de staphylocoques cultivées sur boîte de Pétri ont été contaminées par une moisissure. L'observation géniale est de constater que la moisissure, en l'occurrence *Penicillium notatum*, travaillée par son voisin de paille, était entourée d'une zone d'inhibition où les staphylocoques ne poussent pas. Alexander Fleming interprète ce phénomène par la libération par le champignon d'une substance antibactérienne à laquelle il donne le nom de **pénicilline**. (6)

En 1929, Fleming publia ses travaux relatifs à la puissante activité antibactérienne d'une substance très active dénommée pénicilline, capable d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* et de *Streptococcus pyogenes*, substance pratiquement dépourvue de toxicité.

Dans la première publication, la souche de *Penicillium* avait été classée comme *Penicillium rubrum* par l'équipe de mycologie de l'hôpital St-Mary de Londres. Reistrick et Tom démontrèrent qu'il s'agissait de *Penicillium notatum* espèce voisine de *Penicillium chryseogenum* et décrite en 1911 par Westling. (3)

En 1938, à Oxford, Howard Flory, Ernst Chain et Norman Headley qui, pour des besoins militaires, étudieront les propriétés physicochimiques et thérapeutiques d'une préparation encore impure de pénicilline. Grâce à la lyophilisation ils réussissent en 1940 à en produire 100 mg. Les premiers résultats sur l'homme tiennent du miracle : un bobby d'Oxford, victime d'une infection rebelle aux sulfamide et donc pratiquement condamné, est guéri en quelques jours. Par la suite, la puissance américaine fera le reste : les équipes américaines produiront la pénicilline à l'échelle industrielle dès 1942, sauvant un nombre incalculable de combattants. La commercialisation de la pénicilline G débutera en 1944 aux États Unis.(6, 66)

En 1945, Howard Flory, Ernst Chain et Alexander Fleming recevront le prix Nobel; Robert Robinson recevra le prix Nobel de chimie pour sa synthèse de la pénicilline en 1947. (6)

L'instabilité en milieu acide de la pénicilline G a été partiellement contournée par la préparation des phénoxy-pénicillines ( Pénicilline V ). (3)

### II.3. MODE D'ACTION :

#### II.3.1. Accès des antibiotiques à leur cible (les conditions) :

L'action d'un antibiotique est le résultat des interaction organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactérie d'autre part .Pour résumer ces dernières, on peut dire pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- Ne pas être inactivé ;
- Être capable de ce liée à sa cible.

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types :

- Bactériostatique s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne ;
- Ou bactéricide s'il y a mort de la bactérie. (6)

#### II.3.2. Mécanisme d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques agissent sur les micro-organismes par plusieurs mécanismes dont certains sont connus: sur la paroi bactérienne, sur la membrane cytoplasmique, sur les acides nucléiques, sur le métabolisme intermédiaire. (Figure N°1) (61)

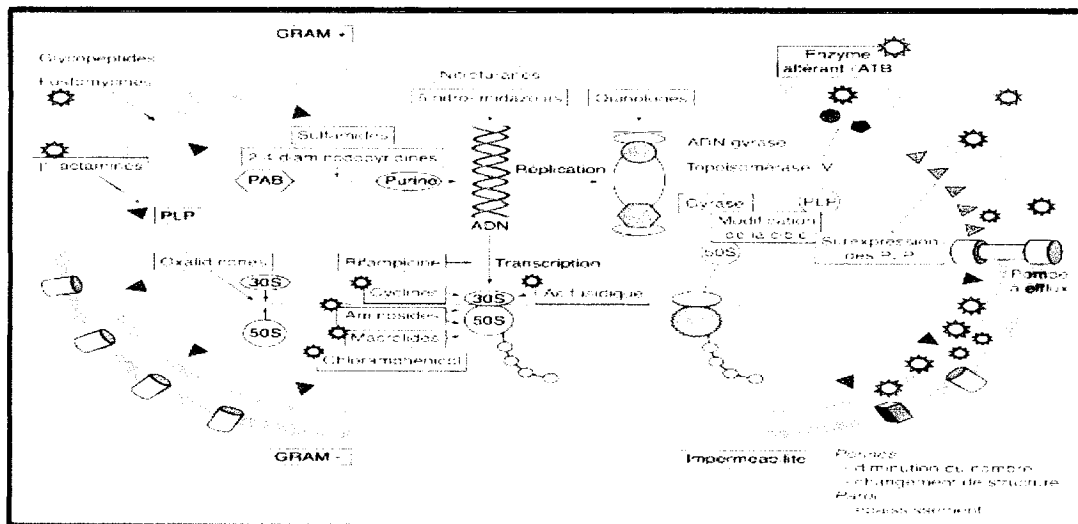


Figure N°2 : Mode d'action des antibiotiques. (53)

#### ✓ Antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne :

Le peptidoglycane, qui en est le constituant principal, est en effet spécifique du monde bactérien. Il s'agit d'un polymère formé de longues chaînes polysidiques reliées entre elles par des ponts peptidiques. Un certain nombre d'enzymes interviennent dans la synthèse du peptidoglycane dont les plus importantes sont les transpeptidases, les transglycosylases et les carboxypeptidases. (6)

Ainsi les bêtalactamines présentent une analogie structurale avec la terminaison D-Ala-D-Ala du précurseur du peptidoglycane. Elles se fixent de manière covalente sur des protéines membranaires, appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ces protéines sont des enzymes impliquées dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane. (7)

Les PLP sont situées à la face externe de la membrane cytoplasmique. Une fois le complexe PLP-antibiotique créé, il est inactif, ce qui a pour conséquence l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane et l'arrêt de la croissance bactérienne. (5)

Les antibiotiques qui agissent suivant ce mode d'action, sont : Les bêtalactamines, les glycopeptides et la fosfomycine. (54)

### ✓ Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique :

Ces molécules ne présentent plus aujourd'hui un intérêt sur le plan clinique, mais leur mécanisme d'action est différent de ce que nous avons décrit ci-dessus. (6)

Elles agissent comme des détergents cationiques : grâce à leur caractère amphipatiques, elles pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides des membranes externes et cytoplasmiques, ce qui entraîne la désorganisation de celles-ci et perturbe la perméabilité membranaire. (47)

Les antibiotiques qui agissent suivant ce mode d'action sont : les polymyxines. Parmi les nombreuses polymyxines, seules la polymyxine B et la polymyxine E (colistine) sont utilisées. (54)

### ✓ Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines :

La synthèse des protéines s'effectue dans le cytoplasme au niveau du ribosome bactérien.

Il faut donc, pour toutes ces molécules, traverser le peptidoglycane et les diverses membranes pour arriver dans le cytoplasme et atteindre leur cible : le ribosome, à fin de perturber le processus de synthèse des protéines et, par conséquent, tuer la cellule. (6)

Ainsi les antibiotiques de cette catégorie les plus importants en médecine sont : les aminosides, les macrolides, les tétracyclines et la rifampicine. (6)

- **Les aminosides** : ils se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome et vont provoquer l'ajout d'acides aminés (AA) erronés. Il y a alors formation d'une protéine anormale non fonctionnelle qui va altérer la membrane cytoplasmique d'où l'action bactéricide attribuée aux aminosides. Ce sont des antibiotiques concentration-dépendants. (49, 53)

Les molécules les plus employées actuellement sont la gentamicine, la netilmicine,

la tobramycine et l'amikacine. Ils peuvent être toxique pour les fonctions auditives ou vestibulaires et pour les fonctions rénales (par atteinte tubulaire). Le risque d'effets toxiques augmente avec la durée du traitement. Dans de rares cas, les aminosides peuvent bloquer la transmission neuro-musculaire. (7)

- **Les macrolides** : se fixent sur la sous unité 50 S du ribosome, il y a alors inhibition de l'élongation du peptide en cours de sa synthèse. (41,49)

✓ **Antibiotiques inhibant la synthèse des acides nucléique :**

- **Les Quinolones** : Elles agissent en bloquant la réplication bactérienne par inhibition de la synthèse d'ADN par l'inhibition des topoisomérases, enzymes intervenant dans la conformation de l'ADN, et plus particulièrement la topoisomérase II (bactérie Gram<sup>-</sup>) et la topoisomérase IV (bactérie Gram<sup>+</sup>). (7)

Ce sont des antibiotiques bactéricides et concentration-dépendants vis-à-vis des bactéries Gram négatif. (53)

- **La Rifamycine** : Elles inhibent l'ARN polymérase ADN-dépendante en se liant à leur cible de manière covalente. Il en résulte un arrêt de la synthèse des ARN messagers. Elle est douée d'une bonne diffusion dans l'organisme et dans les cellules et exerce un effet bactéricide. (8,7)

✓ **Le mécanisme d'inhibition compétitive :**

Les sulfamides agissent par inhibition de la dihydroptérorate synthétase (DHPS), enzyme clef de la synthèse des folates, donc des bases puriques et pyrimidiques bloquant ainsi la synthèse d'ADN. C'est une inhibition compétitive, par analogie à l'acide para-aminobenzoïque (PABA). (41)

Ils ont été les premiers agents antimicrobiens utilisés. Ils sont peu employés actuellement en raison de nombreux effets secondaires et de la fréquence des souches résistantes. (7)



## II.4. CLASSIFICATION :

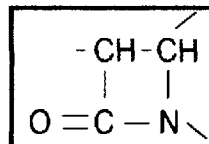
Il existe plusieurs bases de classification des antibiotiques, selon la structure chimique, le mécanisme d'action, l'origine, le type d'action et le spectre d'action. (45,26)

L'abondance des molécules a rendu nécessaire leur classification en familles et sous-familles, en prenant d'abord en compte la structure chimique. (6)

Dans la même famille d'antibiotique, on peut avoir des antibiotiques ayant des spectres d'activités différents, elles sont classés alors en groupe, voir en sous-groupe dans la même famille. (Tableau N°1)

### 1) Les bêtalactamines :

Elles ont en commun un noyau  $\beta$ -lactame, qui caractérisé, entre autre, par une fonction cétone et un groupe aminé. (7. 61)

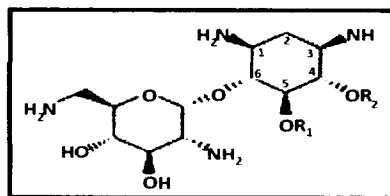


1-aza-cyclobutanone

C'est la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibioprofylaxie et en antibiothérapie.(57)

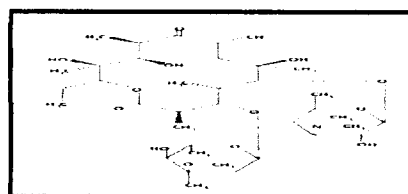
### 2) Les aminosides ou Aminoglycosides :

Ce sont des hétérosides naturels ou hémisynthétiques, constitués par une génine reliée par des liaisons osidiques avec des oses particuliers. Le premier antibiotique de cette famille a été la streptomycine. (56. 32. 7)



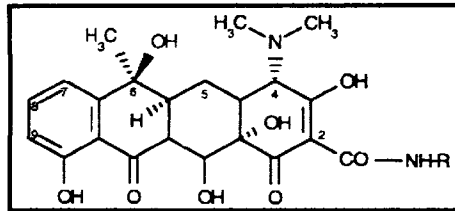
### 3) Les Macrolides et apparentés:

Sont des molécules hydrophobe qui possèdent un noyau lactonique centrale composé de 12 à 16 chaînons avec peu ou pas de double liaison et pas d'atome d'azote. (3)



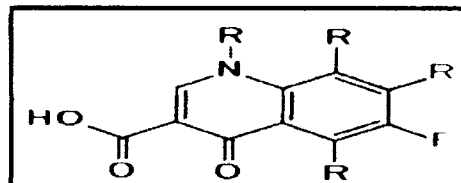
4) Les tétracyclines :

Sont extraites à partir de la fermentation de *Streptomyces aureofaciens* et *Streptomyces rimosus*. La tétracycline se compose d'un squelette central ; cette structure tétracyclique est un octahydronaphtacène substitué par quatre groupements hydroxyles en C-3, C-10, C-12, C-12a, deux groupements cétone en C-1 et C-11 et un groupement diméthylamino en C-4. (3)



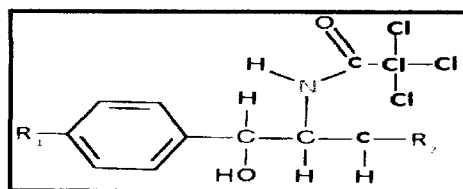
5) Les quinolones :

Ce sont des produits de synthèse qui n'existent pas dans la nature. Ils existe deux grandes classes de quinolones : Quinolones de première génération et Fluoroquinolone ou quinolines de 2<sup>ème</sup> génération, présentent en commun la structure suivante : (27, 53)



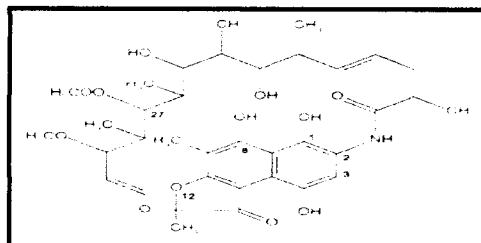
6) Les phénicolés :

Les phénicolés présente une des structures chimique les plus simples dans la classe des antibiotique. (3)



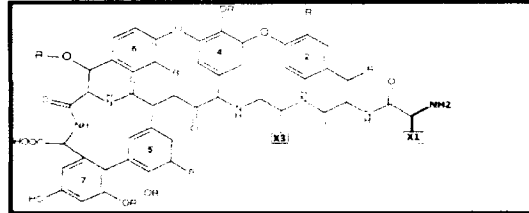
7) Les rifamycines :

Sont caractérisent par une chaîne aliphatique fixée en position 2 du noyau naphaliène et en position 12 de ce noyau. (3)



**8) Les glycopeptides :**

Antibiotique à structure complexe hétérocyclique associant une partie peptidique, une partie osidique et des chaînes d'acides gras, il existe deux molécules : Vancomycine et Teicoplanine. ( 41, 47)



**9) Les polypeptides :**

Sont élaborées par différents germes du genre *Bacillus polymyxa*.

Cette famille d'antibiotiques présente les caractéristiques communes suivantes : origine bactérienne, structure chimique polypeptidique, activité particulière contre les bacilles à Gram négatif. (32)

**10) Sulfamides et associations :**

Ce sont des produits de synthèse. Ils présentent en commun la structure suivante :( 29, 47)

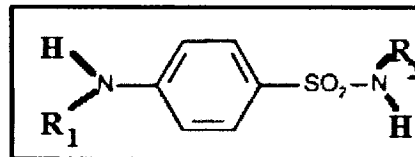


Tableau N°1 : Classification et mode d'action des antibiotiques. (6, 7)

Famille	Antibiotique	Mode d'action
<b>Bêtalactamines</b>	<b>Pénicillines :</b> groupe A groupe M groupe G carboxypénicilline amidinopénicilline	<b>Agissant sur la synthèse du peptidoglycane</b>
	Carbapénème Imipénème	
	<b>Céphalosporines</b> 1 <sup>er</sup> génération 2 <sup>ème</sup> génération 3 <sup>ème</sup> génération	
	<b>Monobactames</b> Aztréonam	
<b>Glycopeptides</b>	Voncomycine Teicoplanine	
<b>Aminosides (Aminoglycosides)</b>	Streptomycine Néomycine Kanamycine Gentamycine Tobramycine ..	<b>Inhibent la synthèse protéique</b>
<b>Phénicoles</b>	Chloraphénicol Thiamphénicol	
<b>Macrolides</b>	Erythromycine Lincomycine Josamycine Spiromycine	
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	
<b>Sulfamides</b>	Sulfamide	<b>Inhibition compétitive</b>
<b>Quinolones</b>	Refluxacine Acide nalidixique	<b>Agissent sur les acides nucléiques</b>
<b>Rifamycines</b>	Rifampicine	
<b>Polymyxines</b>	Colistine	<b>Agissent sur les membranes</b>
<b>Autre antibiotique</b>	Nitrofurane	<b>Agissent sur les membranes</b>
	Acide fusidique	<b>Inhibent la synthèse protéique</b>
	Fosfomycine	<b>Agissant sur la synthèse du peptidoglycane</b>
	Nitro-imidazoles (Métronidazole)	<b>Agissent sur les acides nucléiques</b>

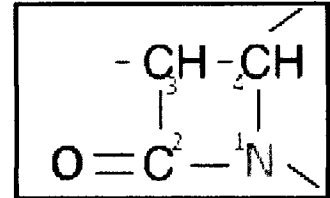
### III. LES BÊTALACTAMINES :

#### III.1. DÉFINITION :

Les bêtalactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibioprophyllaxie et en antibiothérapie. (22, 71)

Elles représentent une vaste famille d'antibiotiques bactéricides qui possèdent comme structure de base le cycle bêtalactame :

le cycle tétragonal de l'azétidin-2-one : amide cyclique à quatre chaînons. (22, 45)

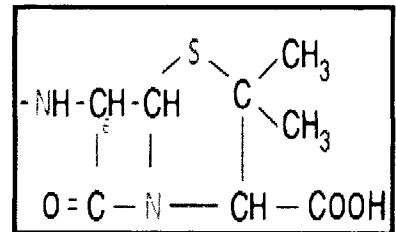


#### III 2. CLASSIFICATION :

Les  $\beta$ - lactamines regroupent plusieurs familles d'antibiotiques car leurs structures moléculaires sont proches. Cette famille est subdivisée en 4 groupes majeures :(40)

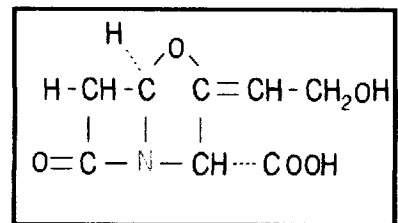
##### ❖ Les pénames :

- Pénicillines : Dont le noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle thiazolidine ( on trouve en 1 un atome de soufre ). L'adjonction d'une fonction amine conduit à l'acid-6-amino-pénicillanique, squelette des pénicillines. (52,61)



Noyau péname de pénicillines

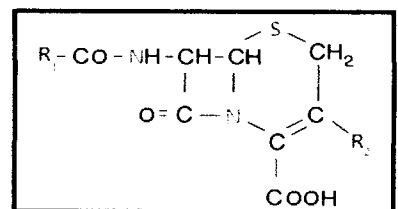
- Oxapénames ou clavams :Le remplacement de l'atome du Soufre(S) par un atome d'Oxygène (O) dans le cycle thiazolidine fournit le noyau oxapéname, exemple l'acide clavulanique le cycle bêtalactame associé à un cycle. (15,61)



Acide clavulanique oxazolidine.

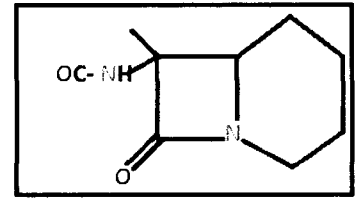
##### ❖ les Céphèmes :

- Le cycle bêtalactame est associé à un cycle dihydro-thiazine (en 1 on trouve un atome de soufre) chez les céphalosporines: cycle céphème. (26)



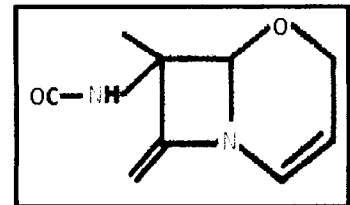
Cycle céphème

- Le remplacement de l'atome du Soufre par un CH<sub>2</sub> dans le cycle hexagonal fournit le noyau carbacéphème. (15)



Carbacéphèmes

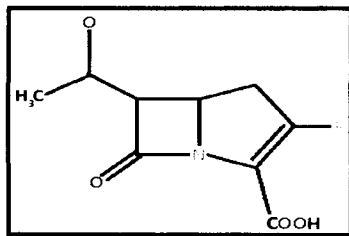
- Le remplacement de l'atome du Soufre par un atome d'oxygène fournit le noyau oxacéphème. (22, 29,61)



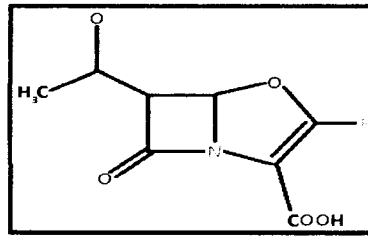
Oxacéphèmes

❖ **Les pénèmes :**

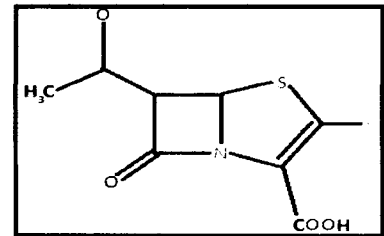
Les pénèmes se caractérisent par la présence d'un cycle penta-atomique insaturé colé au cycle azétidinone. En fonction de l'hétéroatome fixé en position 1, on distingue trois groupes : (3, 48)



Carbapénèmes



Oxa-1-pénèmes

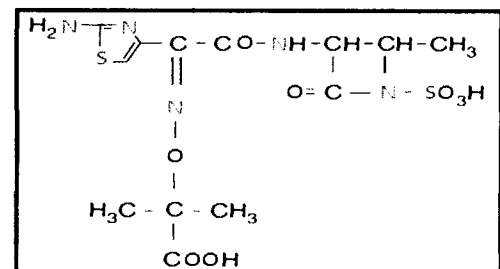


Sulfopénèmes

❖ **Monobactames, Aztréonam :**

Les monobactames sont des antibiotiques présentant dans leur formule le cycle bêtalactame substitué.

Ils sont dit monocycliques. (26,61)



Aztréonam

### III.3. ORIGINE DES BÊTALACTAMINES :

Les bêtalactamines sont, au sens strict du terme, des « antibiotiques », c'est-à-dire des substances extraites d'organismes vivants, s'opposent aux bactéries ; elles sont donc initialement d'origine extractive (à partir des cultures de micro-organisme) ; puis, secondairement, obtenues par héli-synthèse, c'est-à-dire par adjonction de chaînes latérales sur une structure naturelle « orientée » par le milieu de culture. (29)

Les différents micro-organismes producteurs sont :

#### Des moisissures :

- Penicillium (notatum, et surtout chryseogenum) fournit la base des pénicillines (et des oxacéphames).
- Cephalosporine acremonium est à l'origine des céphalosporines.

#### Des bactéries :

- Streptomyces :
  - Clavuligerus (pour l'acides clavulanique ).
  - Cattleya (pour la thiénamycine ).
- Bacilles Gram<sup>-</sup> : Chromobacterium violaceum ( pour l'azthréonam ). (3, 29)

### III.4. MÉCANISME D'ACTION :

Les  $\beta$ -lactamines se fixent sur des protéines de la membrane cytoplasmique : les protéines liant les pénicillines (PLP). Ce sont les cibles des  $\beta$ -lactamines.

Ces PLP sont en fait les enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane : les **transpeptidase, les carboxypeptidase et transglycosylases** .

Les  $\beta$ -lactamines présentes une analogie structurale avec un constituant du peptidoglycane en formation , le peptide D-ala-D-ala qui est le substrat naturel de ces enzymes .

Elles agissent en «substrat suicide» et bloquent le fonctionnement de ces enzymes , inhibant ainsi la formation du peptidoglycane. (6)

#### ✓ Chez les bactéries à Gram positif :

La pénétration est aisée car la peptidoglycane est perméable aux petites molécules.

#### ✓ Chez les bactéries à Gram négatif :

Il existe une « membrane », située à l'extérieur du peptidoglycane, et la pénétration est conditionnée par des protéines, les « porines » dont l'assemblage délimite des « pores » ou points de pénétration. (Figure N° 3)

Il est clair que le passage des  $\beta$ -lactamines, et donc leur activité, est conditionné par le nombre de ces pores et par leur perméabilité. (29,6)

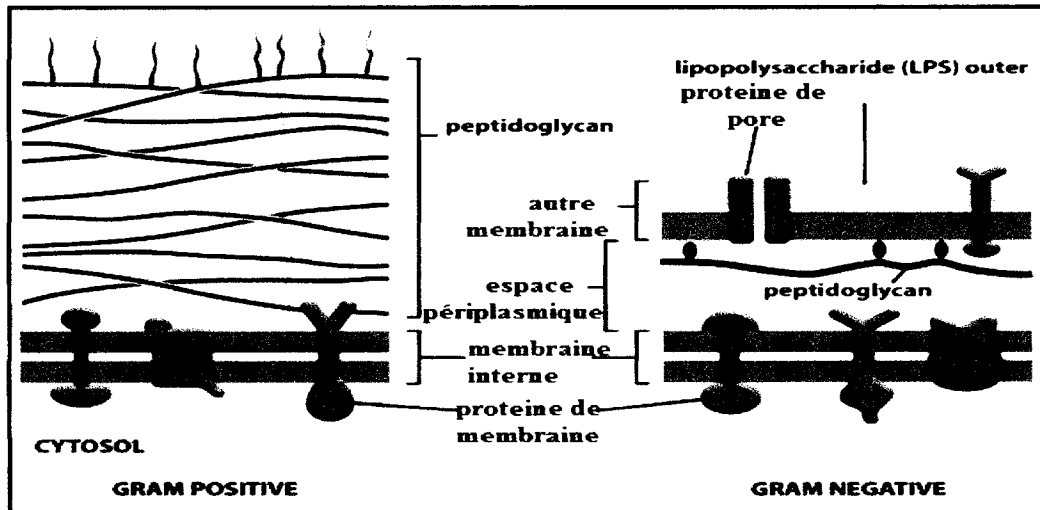


Figure N°3 : Structure des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. (59)

Les effets provoqués sur les enzymes bactériennes donc sur les « cibles » par les antibiotiques bêta-lactamines sont :

- Une inhibition des transpeptidase et des carboxypeptidases, qui provoque l'inhibition de l'édification de la paroi.
- La désinhibition d'une autolysine normalement active uniquement au cours de la division bactérienne ; cette désinhibition permet à la muréine-hydrolase d'hydrolyser la muréine, et ainsi de provoquer la bactériolyse.

L'efficacité des  $\beta$ -lactamines tient en partie à cette lyse : c'est la bactéricidie. (29, 6)



## IV. LES PÉNICILLINES :

### IV.1. DÉFINITION :

Les pénicillines appartiennent à la famille des  $\beta$ -lactamines. Elles sont constituées de trois parties : un noyau thiazolidine fixé sur un cycle  $\beta$ -lactame et une chaîne latérale en C-6 qui permet de les différencier. (3)

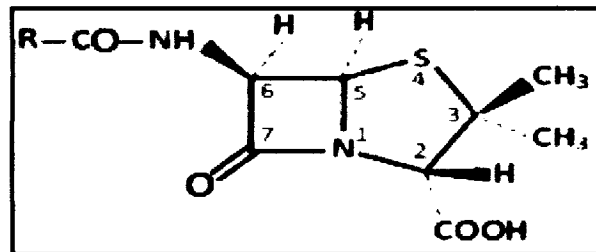


Figure N°4: Structure générale des pénicillines. (22, 29)

### IV.2. NOMECLATURE:

Dans le système international de IUPAC, les pénicillines sont considérées comme des dérivés du bicyclo [3.2.0] heptane ; les carbones 1 et 4 étant respectivement remplacé par l'azote ( aza ) et le soufre ( thia).

Les pénicillines sont donc des amides en 6 de l'acide 6-amino( 3S, 5R, 6R ), 3,3-diméthyl, 7-oxo, 4-thia, 1-aza, [ 3.2.0 ] bicyclo heptane carboxylique. (22)

### IV.3. CLASSIFICATION :

Les pénicillines se différencient en fonction de la chaîne latérale fixée en position 6 du noyau péname.

Ainsi, on peut classer les pénicillines suivant leur :

➤ **Origine :**

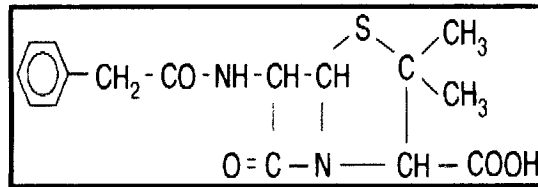
- Pénicillines naturelles, extractives : pénicilline G ou benzylpénicilline, Pénicilline V ou phénoxyéthylpénicilline.
- Pénicillines hémi-synthétiques : pénicillines M et A.

➤ **Voie d'administration :**

- Voie parentérale : IV, IM.
- Voie orale (résistantes à l'acidité gastrique). (3,29)

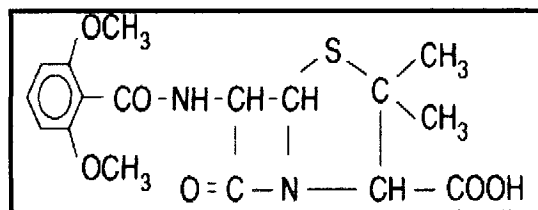
➤ **Spectre d'action :**

- Pénicilline « à spectre étroit » : **pénicilline G et V** : activité presque limitée aux germes Gram<sup>+</sup>. Très sensible à toutes les pénicillinases. (29)



Structure de pénicilline G. (61)

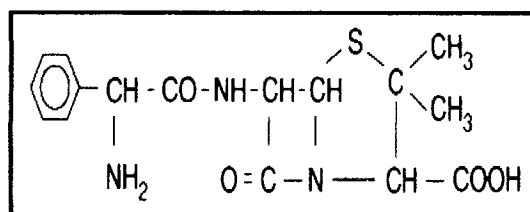
- Pénicillines « à spectre étroit », mais **résistantes** aux pénicillinase du staphylocoque (inactives sur la plupart des Gram<sup>-</sup>) : ce sont les pénicillines M. (29)



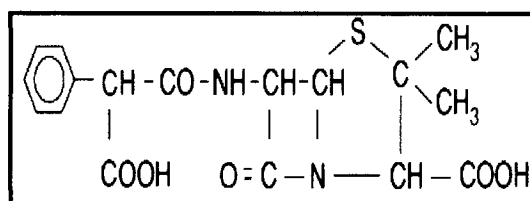
Méticilline et analogues (groupe M). (61)

- Pénicillines « à spectre large » : actives sur des germes Gram<sup>+</sup> (excepté les staphylocoques sécréteurs de pénicillinases) et sur de nombreux germes Gram<sup>-</sup>, vis-à-vis desquels elles ont une action bactéricide : pénicilline A. (29)

-aminopénicillines (ampicilline) (groupe A) :



-carboxypénicillines (carbénicilline) :



Ces groupes se différencient les uns des autres par la formule chimique, la stabilité et l'activité antibactérienne. (61)

#### IV.5. RELATION STRUCTURE-ACTIVITÉ:

##### a. Fonction carboxylique :

- Sert à la formation de sels :

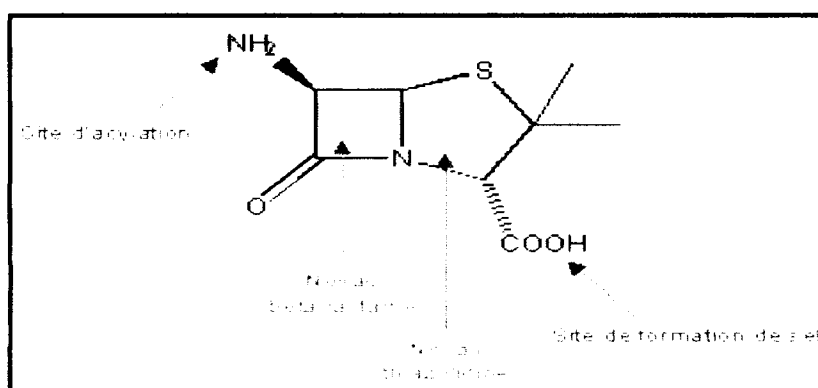
-Sels alcalins :  $-\text{COO}^-\text{Na}^+$  : sel de sodium à dissolution très rapide. Par contre , les sels des métaux lourds sont insolubles (  $\text{Cu}^{++}$  ) ou provoquent des décompositions.

-Sels de bases organiques :  $-\text{COO}^-\text{H}_3\text{N}^+-\text{R}$  : effet retard.

Permet d'avoir une action prolongée. (71, 22)

- Formation d'esters :

-Intérêt lorsque le composé a une mauvaise résorption digestive : on forme un pro-médicament avec une fonction ester, qui est capable de libérer l'antibiotique in vivo. (22)



##### b. Le noyau $\beta$ -lactame :

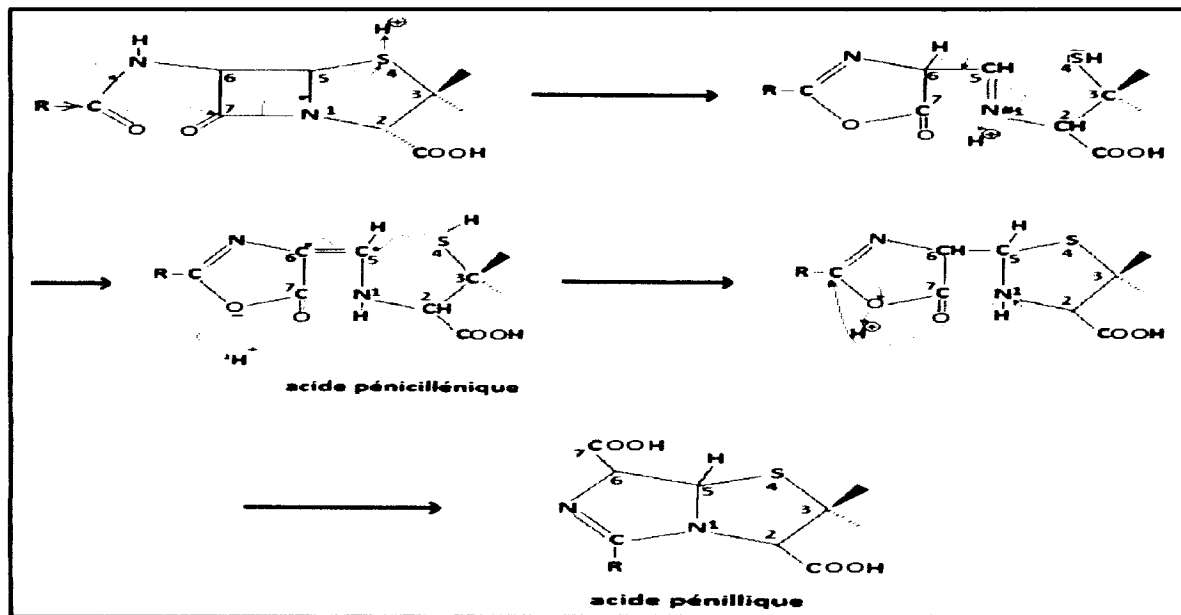
- Noyau indispensable à l'activité antibactérienne mais il est responsable de l'instabilité en milieu acide. (car structure non plane ).

- On a inactivation enzymatique de  $\beta$ -lactamines par ouverture de cycle  $\beta$ -lactames : (71)

- **Due à  $\text{H}^+$**  : En présence d'ion  $\text{H}^+$ , un mécanisme, vraisemblablement concerté avec attaque électrophile sur l'atome de soufre, provoque l'ouverture du lactame et du cycle thiazolidine, suivi de réarrangements conduisant à la structure oxazolique de l'acide pénicillénique. Ce dernier, si le milieu est très acide, peut former le système bicyclique de l'acide pénillique. (Figure N°5 ) (22)

Ainsi l'instabilité en milieu acide, fait que ces molécules sont peu absorbées par voie digestive. L'introduction sur la chaîne latérale d'un groupement polaire tel qu'un atome d'oxygène ( phénoxy pénicilline ) ou de soufre ne modifie pas l'activité antibactérienne mais augmente la stabilité en milieu acide. (3)

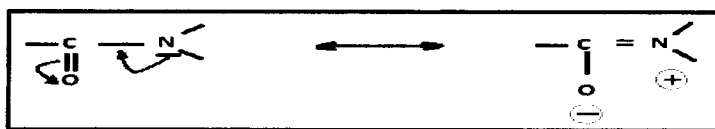
**Exemple :** L'instabilité en milieu acide de la pénicilline G a été partiellement contournée par la préparation des phénoxyéthylpénicilline ( Pénicilline V ). (3)



**Figure N°5 :** Dégradation de pénicilline en milieu acide. (22, 72)

Il faut noter que cette dégradation en milieu acide est d'autant plus facile que le groupe R possède un caractère donneur d'électrons et qu'au contraire des attracteurs fourniront des produits stables utilisables par voie orale malgré l'acidité gastrique. (3, 22)

Cette ouverture du cycle bêta-lactame en milieu acide est favorisée par l'accolement du cycle thiazolidine : en empêchant la planéité de l'ensemble, il limite la résonance de ce groupe amide qui se trouve fragilisé par rapport aux liaisons peptidiques isolées. (22)



- **Due à OH<sup>-</sup> :** C'est en fait à pH ≥ 8 qu'apparaissent les attaques de l'ion OH<sup>-</sup> sur le carbonyle du lactame avec ouverture du cycle, et on obtient l'acide pénicilloïque inactif qui par décarboxylation, conduit à l'acide pénilloïque (Figure N°6). (22, 32)

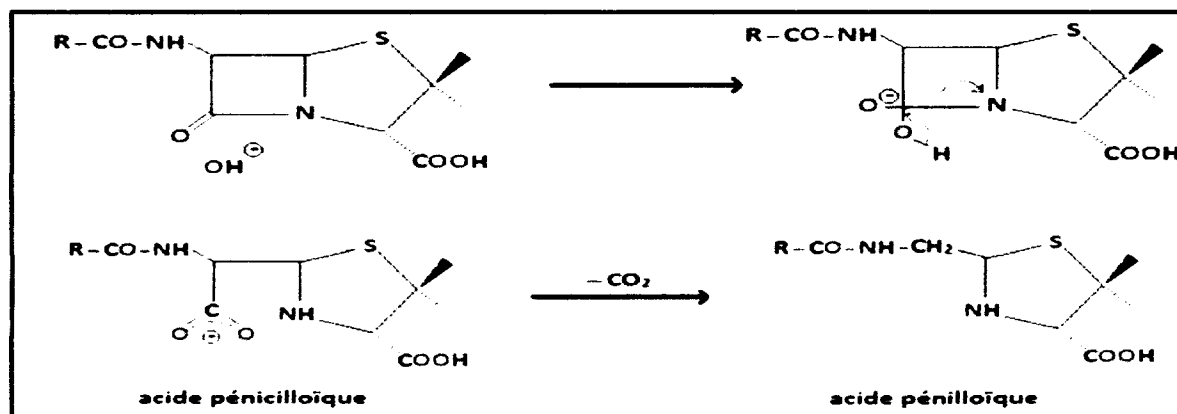
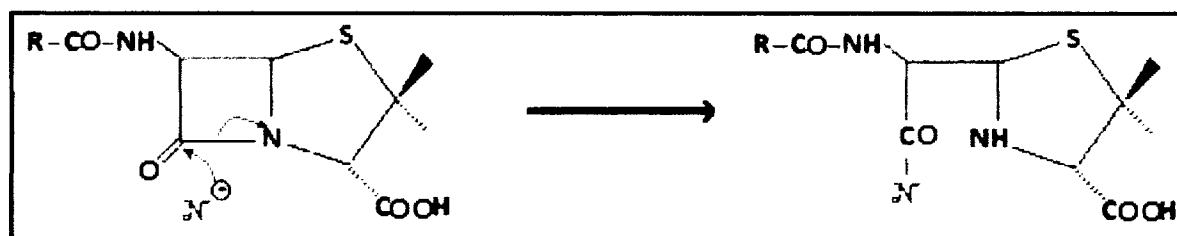


Figure N°6 : Dégradation de pénicilline en milieu alcalin. (22)

- Alcoolyses et aminolyse :

Le cycle bêta-lactame est sensible à de nombreux autres agents nucléophiles avec très souvent action catalytiques d'ions de métaux lourds :  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Sn}^{++}$ .



La présence dans le milieu des sels de métaux ( $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Cd}^{++}$ ,  $\text{Pb}^{++}$ ) ou de mercure II, favorise la dégradation de l'acide pénicilloïque en carbinolamine instable fournissant de l'acide pénaldique décarboxylable en pénicilloaldéhyde et en D-pénicillamine (Figure N°7). (22)

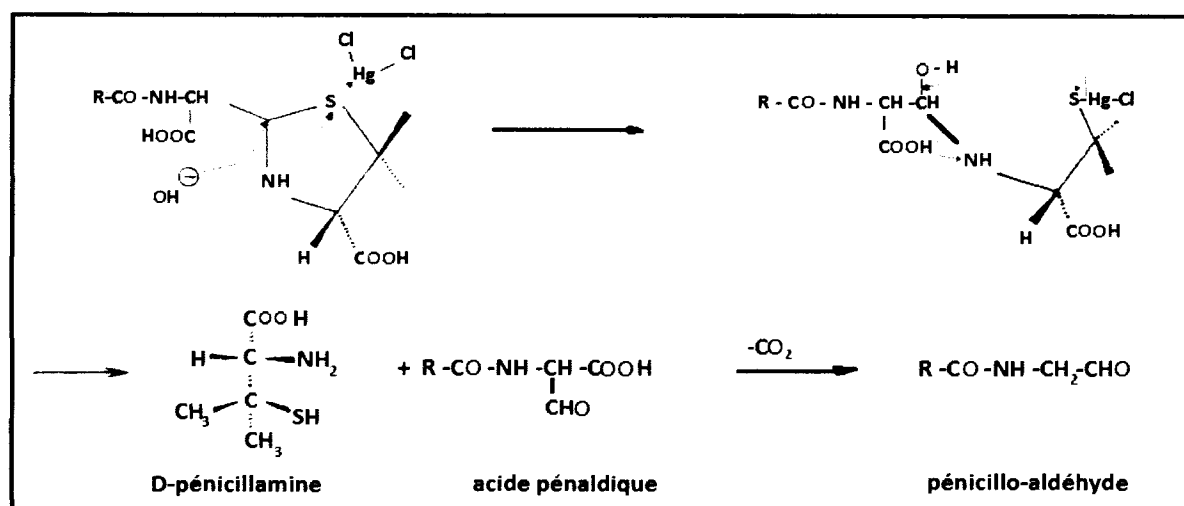


Figure N°7 : Dégradation de l'acide pénicilloïque sous l'influence des sels mercuriques.

## V. ETUDE DE LA PÉNICILLINE V :

### V.1. DÉFINITION :

La Phénoxyéthylpénicilline (pénicilline V) est un antibiotique bactéricide de la famille des bêta-lactamines, du groupe de pénicilline naturelle, du type des phénoxyéthylpénicillines. (39)

La pénicilline V diffère de la pénicilline G par remplacement du groupe benzyle par un groupe phénoxyéthyle. Cette modification chimique lui confère une stabilité en milieu acide (radical attracteur d'électrons) et permet donc une administration par voie orale. (56)

Cette molécule prend sa place dans l'éventail des produits antibactériens actuellement disponible. Elle est limitée aux infections dues aux germes définis comme sensibles, elle est de spectre bactérien étroit. (44, 11)

La pénicilline V est l'une des pénicillines ordinaires qui a une forte activité contre les organismes Gram positif, les cocci Gram négatif et les germes anaérobies non producteurs de bêta-lactamases, et une faible activité contre les bacilles Gram négatif. Elle est sensible à l'hydrolyse par les bêta-lactamases et inactivée par la pénicillinase. (4)

### V.2. FORMULE ET STRUCTURE CHIMIQUE :

La pénicilline V est de formule chimique brute :  $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ , sa masse moléculaire est de 350,39g/mol. (33, 34)

Sa formule chimique développée est la suivante : (34)

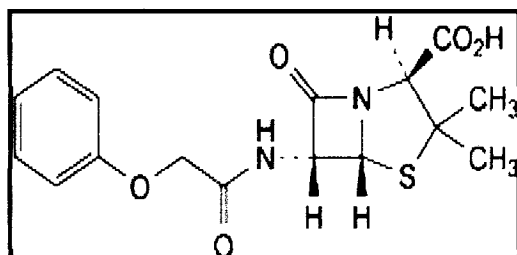


Figure N°8 : Formule chimique développée de la pénicilline V. Figure N°9 : Optimisation tridimensionnelle.

développée de la pénicilline V.

- Atome de carbone
- atome d'azote
- Atome d'hydrogène
- atome de d'oxygène
- Atome de soufre

### V.3.NOMENCLATURE ET DÉNOMINATIONS :

#### V.3.1. Dénomination scientifique selon l'UPAC :

L'IUPAC (International Union Of Pure and Applied Chemistry ) propose pour la pénicilline V les dénominations chimiques suivantes :

- ✓ Acide (2S,5R,6R)-3,3-diméthyl-7-oxo-6 (2-phénoxyacétamido)-4-thia-1- azabicyclo [3.2.0] heptane-2- carboxylique.
- ✓ 4-Thia -1- azabicyclo [3.2.0] heptane-2- acide carboxylique,3,3-diméthyl-7-oxo-6-(phénoxyacétyl) amino-,2S-(2 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ ). (33, 34)

#### V.3.2. Dénomination Commune Internationale (DCI) :

- ✓ Pénicilline V. (33)
- ✓ Phénoxyméthylpénicilline.(33,44, 39)

#### V.3.3. Numéro d'enregistrement(CAS) :

Le numéro d'enregistrement CAS « Chemical Abstract Service » de la pénicilline V est : [87-08-1].(33)

#### V.3.4.Noms déposés (commerciales) de la pénicilline V :

La pénicilline V est mise sur le marché sous plusieurs spécialités princeps et génériques dont on cite :  
- Oracilline-  
Orapen-Ospen.

#### V.3.6. Autres systèmes de dénomination :

- SMILE canoniques(Simplified Molecular Input Line Entry Specification) :

CC1(C(N2C(S1)C(C2=O)NC(=O)COC3=CC=CC=C3)C(=O)O)C. (69)

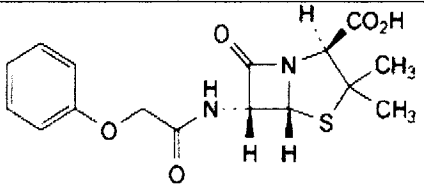
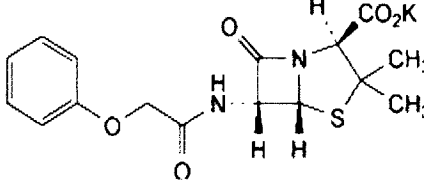
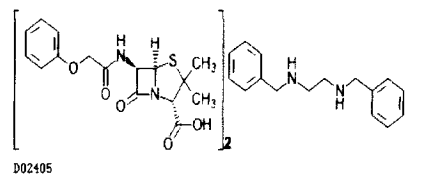
- ECNumber( EuropéanCommunityNumber) : [201-722-0]. (70)

UNII (Unique Ingrédient Identifier) : [ Z61I075U2W]. (70)

V.3.5. Sels et dérivés :

Selon les pharmacopées, les dérivés de la pénicilline V sont représentés dans le tableau N°2 : (33, 34, 68)

Tableau N°2 : Sels et dérivés de la pénicilline V.

Dérivé et sel	Formule brute	Masse moléculaire (g/mol)	Structure chimique	CAS
Pénicilline V ACIDE	$C_{16}H_{18}N_2O_5S$	350,4		87-08-1
Pénicilline V POTASSIQUE	$C_{16}H_{17}KN_2O_5S$	388,5		132-98-9
Pénicilline V Benzathine	$(C_{16}H_{18}N_2O_5S)_2 \cdot C_{16}H_{20}N_2$	941.1224		5928-84-7

V.4.MODE D'OBTENTION :

V.4.1.Obtention de la pénicilline V par voie biosynthétique (fermentation) :

La pénicilline V parmi de très nombreuses pénicillines naturelles qui soit toujours obtenus par voie biotechnologique : culture de penicillium notatum. La voie biosynthétique suivi par ces microorganismes montrant la constitution initiale d'un tripeptide entre l'acide L-α aminodipique , la L-cysteineet la L-valine. Ce tripeptide se cyclise ensuite en isopénicilline N par action de l'ACV synthétase [L-δ-(α-aminoadipoyl)-L-cystéinyl-D-valine synthétase].(figure N° 10) (22, 25)



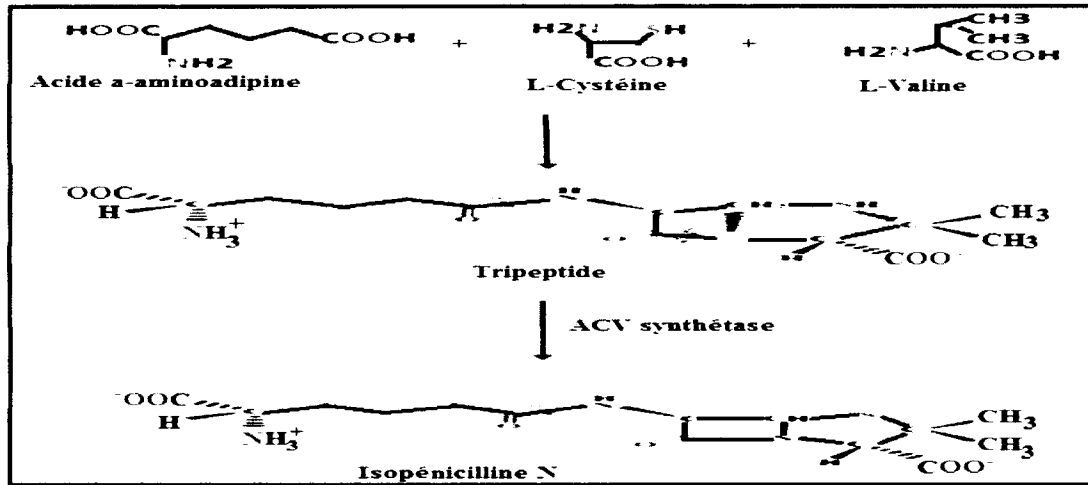


Figure N°10 :Obtention de l'isopénicilline N.

En fin, un système enzymatique de ces microorganismes : l'acyltransférase, catalyse la substitution de la chaîne latérale par un autre reste acylant l'acide amino-6 pénicillanique. L'utilisation de précurseurs dans le milieu de culture augmente le rendement de biosynthèse vers tel ou tel type de pénicilline, la présence de précurseur comme l'acide phénoxyacétique dans le milieu de culture augmente la production de la pénicilline V. (22, 25)

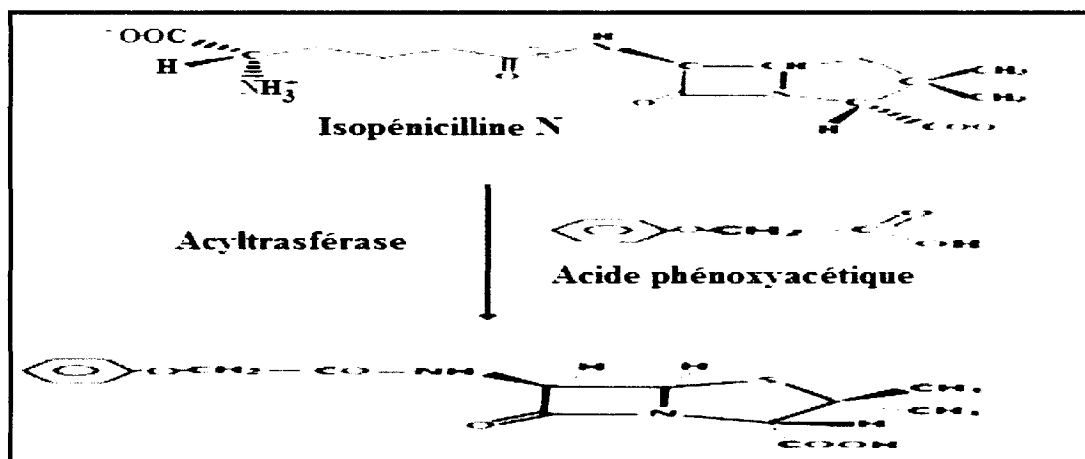


Figure N°11 : Substitution de la chaîne latérale.

#### V.4.2 Synthèse chimique de la pénicilline V (méthode classique) :

Grâce à des groupements protecteurs permet la cyclisation du bêta-lactame en utilisant des procédés classiques de la synthèse des peptides. Le dérivé formylé de la glycine I est protégé pour la fonction acide sous forme d'ester tertiobutylique et pour la fonction amine, engagé

dans un phthalide. Sous l'action de la pénicillamine II, le cycle thiazolidine est ainsi construit et on pratique à ce stade la séparation du diastéréoisomère. (22)

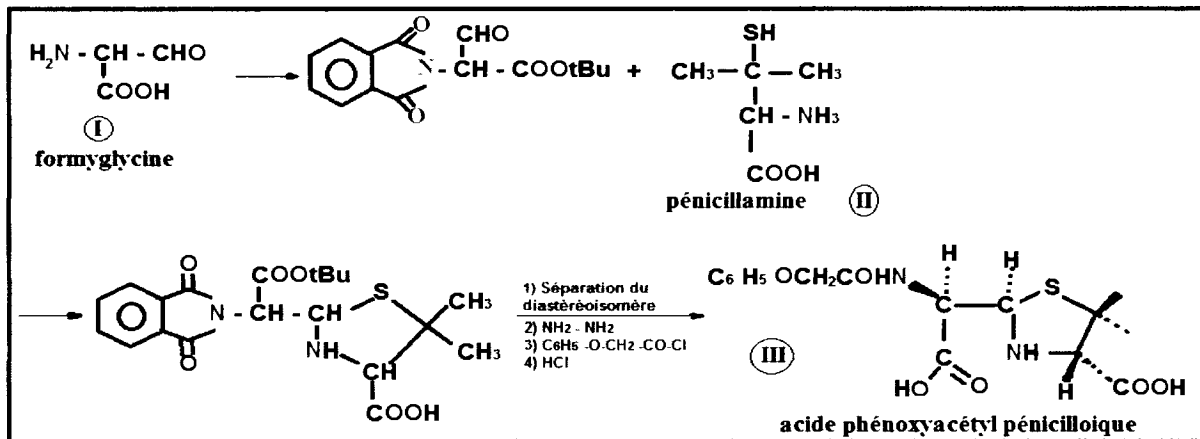


Figure N° 12: Obtention des peptides et la séparation du diastéréoisomère.

Le traitement à l'hydrazine libère la fonction amine du phthalide et l'on acyle à l'aide du chlorure de l'acide phénoxyacétique III; le  $\text{COOH}$  lui, est libéré de son ester par  $\text{HCl}$  anhydre. L'acide phénoxyacétylpénicilloïque obtenu est traité par l'hydroxyde de sodium «  $\text{NaOH}$  » qui bloque le carboxyle le plus dissocié et permet la cyclisation en lactame qui est réalisée par déshydratation à l'aide de dicyclohexylcarbodiimide (DCC). (22, 25)

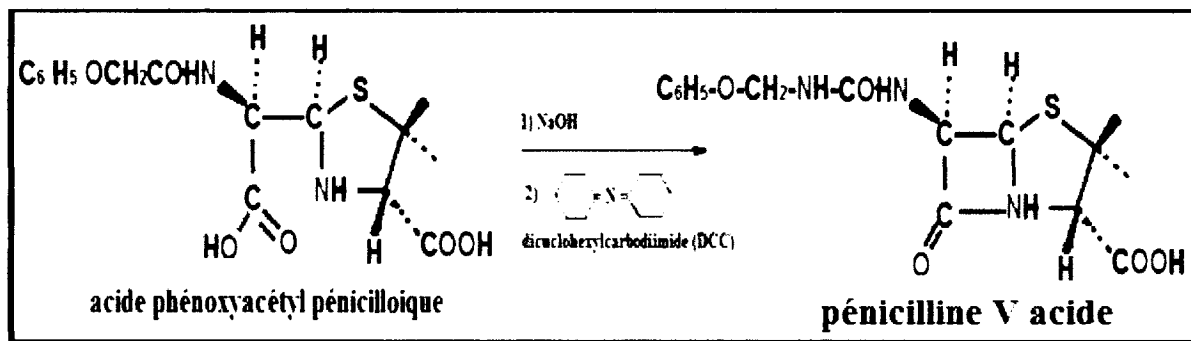


Figure N° 13: La formation de la pénicilline V.

## V.5. PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA PÉNICILLINE V :

### ✓ Phénoxy méthylpénicilline acide:

La phénoxy méthylpénicilline acide se présente sous forme d'une poudre blanche cristalline ou sensiblement blanche légèrement hygroscopique. Son point de fusion est compris entre 120° à 128°C. Son Pouvoir rotatoire est de : +186 à +200.

Elle est très peu soluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol (96°), soluble dans les solvants organiques polaires et pratiquement insoluble dans les huiles végétales.

Le pH d'une solution aqueuse saturée (concentration de 30 mg/ml) est compris entre 2.5 à 4 et sa valeur de pKa est de 2.79. (33,34, 44)

### ✓ Phénoxy méthylpénicilline potassique :

La phénoxy méthylpénicilline potassique est présentée sous forme d'une poudre blanche cristalline ou sensiblement blanche. Son Pouvoir rotatoire est de : +213 à +215.

Elle est facilement soluble dans l'eau, pratiquement insoluble dans l'éthanol (96°). Le pH d'une solution contenant 50mg de phénoxy méthylepénicilline potassique par 10ml de l'eau pure est entre 5,5 à 7,5. (34)

**V.6. RELATION STRUCTURE ACTIVITÉ :**

- Le cycle tendu de type  $\beta$ -lactame est indispensable à l'activité antibactérienne.
- La fonction acide carboxylique libre est essentielle pour la formation des sels (par exemple pénicilline V potassique).
- Le système bi cyclique est important. Il confère une tension particulière au cycle  $\beta$ -lactame. Or, plus la molécule est tendue, plus elle est active.
- La chaîne latérale acylamino est essentielle.
- La stéréochimie du système bi cyclique par rapport à la chaîne latérale acylamino est importante.
- La présence d'oxygène électro négatif sur la chaîne acyle (voisin du noyau benzénique), confère l'effet électro attracteur qui, assure la stabilité en milieu acide, est donc permet l'absorption par voie orale. (31, 3,22, 51)

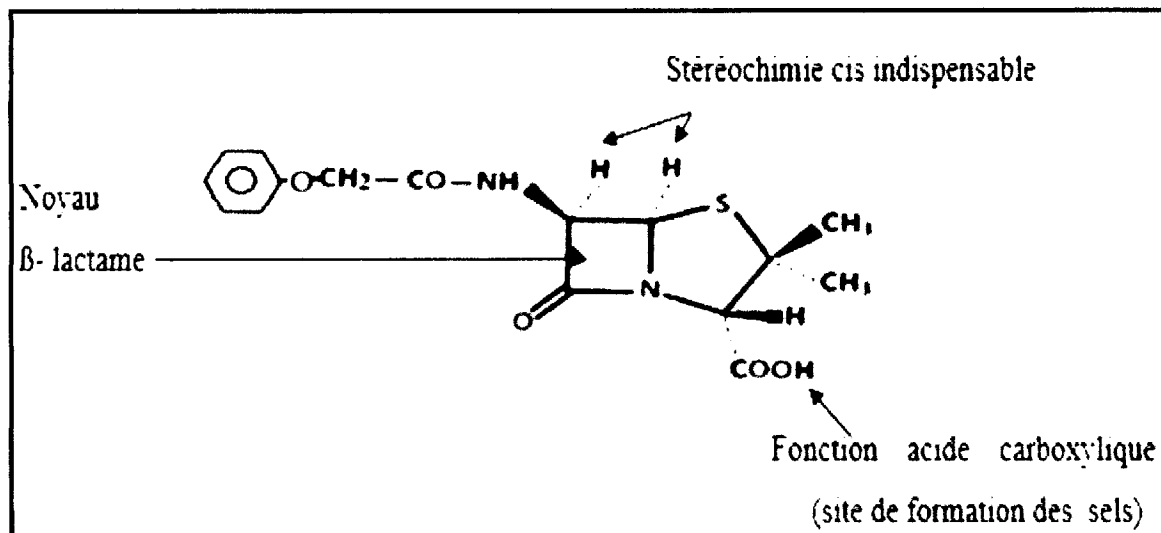


Figure N°14:Relation structure activité de la pénicilline V acide.

## V.7.ETUDE PHARMACOLOGIQUE DE LA PÉNICILLINE V

### V.7.1.Pharmacocinétique :

- **Absorption :**

La pénicilline V est plus stable en milieu acide au contraire de pénicilline G et de ce fait la pénicilline V peut être administrée par voie per os. (6)

Chez l'adulte, la biodisponibilité orale de la pénicilline V est de l'ordre de 55 à 60 %. Elle est diminuée par la prise d'aliments. Chez l'enfant, la prise de pénicilline V avec un biberon de lait diminue la valeur de la C<sub>max</sub>. Cependant, l'influence des repas ne justifie pas de recommandation sur la prise du médicament. (44)

Chez l'adulte, le pic plasmatique est précoce puisqu'il apparaît entre la 30<sup>ème</sup> et la 60<sup>ème</sup> minute à posologie égale, les concentrations plasmatiques apparaissent plus faibles chez l'enfant (7 mois à 10 ans) que chez l'adulte. A titre d'exemple, chez l'enfant de 1 à 8 mois, pour une dose de 8 mg/kg (12 500 UI/kg), le pic plasmatique après administration à jeun est de 1 à 2 mg/l. (44, 39)

- **Distribution :**

Chez l'animal, la pénicilline V est distribuée de façon satisfaisante dans les poumons. Chez l'homme, cette distribution est satisfaisante dans le tissu amygdalien. (12)

La pénétration dans le LCR reste faible et les concentrations n'y dépassent pas le 1/10 des concentrations sériques maximales. (44)

Le pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques est de l'ordre de 65 à 80 %. (44)

- **Biotransformation :**

Le métabolisme est faible, deux produits de dégradation ont été isolés : l'acide pénicilloïque et le parahydroxypénicilline. Le parahydroxypénicilline est biologiquement actif. (3)

- **Élimination :**

La pénicilline V subit à la fois une métabolisation qui conduit à l'acide pénicilloïque correspondant et une élimination rénale associant la filtration glomérulaire et la sécrétion tubulaire.

La fraction éliminée dans les urines des 12 heures est comprise entre 25 et 50 % de la dose totale administrée.

La clairance plasmatique totale est de l'ordre de 500 à 600 ml/min et la demi-vie apparente d'élimination est comprise entre 0,6 et 1 heure. (44)

### V.7.2.Pharmacodynamie :

- **Classe pharmacothérapeutique :**

Pénicillines sensibles aux bêta- lactamases et au pénicillinase.(39)

La pénicilline V est un antibactérien à usage systémique,antibiotique bactéricide de la famille des betalactamines du groupe des pénicillines naturelles, du type des phénoxpénicillines.(44)

- **Spectre d'activité antibactérienne :**

Pour un antibiotique donné l'activité antibactérienne ne s'exerce que vis -à vis de certaines espèces bactériennes, ce qui définit son spectre d'activité.

Les espèces constamment résistantes possèdent ce qu'on appelle une résistance naturelle. Lorsque dans une espèce, jusque-là sensible à un antibiotique, des souches résistantes apparaissent, on utilise le terme de résistance acquise. (8)

La prévalence de la résistance acquise peut varier en fonction de la géographie et du temps pour certaines espèces. Il est donc utile de disposer d'informations sur la prévalence de la résistance locale, surtout pour le traitement d'infections sévères. Les données sur les espèces sensibles ne peuvent donc apporter qu'une orientation sur les probabilités de la sensibilité d'une souche bactérienne à cet antibiotique. (12)

- ✓ **Espèces habituellement sensibles à la pénicilline V :**

Aérobies à Gram positif :

- *Corynebacterium diphtheriae* ;
- *Streptococcus pyogenes*.

Anaérobies :

- *Fusobacterium nucleatum*.

Autres :

- *Treponema*.

- ✓ **Espèces inconstamment sensibles ( Résistance acquise > 10% ) :**

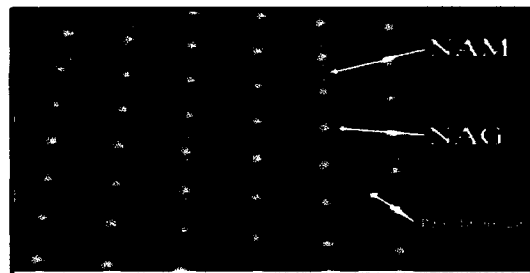
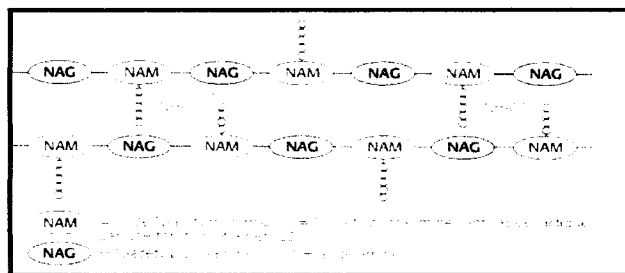
-Aérobies à Gram positif :

- Streptococcus pneumoniae*. (44, 39)

### V.7.3.Mécanisme d'action de la pénicilline V :

La paroi cellulaire bactérienne est une structure rigide, responsable de la forme des bactéries, et leur permettant de résister à la lyse osmotique. Elle est présente chez toutes les bactéries, à l'exception des mycoplasmes. Sa structure varie selon les bactéries. (8)

Un élément constant de la paroi bactérienne est le **peptidoglycane**. C'est lui qui assure la rigidité de la paroi. C'est une énorme macromolécule réticulée faite de chaînes polysaccharidiques, qui sont faites de l'alternance de N-acétyl- glucosamine(NAG) et d'acide N-acétyl-muramique (NAM). Sur les résidus d'acide N-acétyl- muramique sont fixés des tétras peptides faits de l'alternance d'acides aminés de la série D et de la série L. Ces sous unités (feuillettes) sont reliés entre eux par des ponts peptidiques constitués de 5 acides aminés appelés peptides de liaison. (22,8)



**Figure N°15 : Structure de peptidoglycane.(19)Figure N°16: Structure tridimensionnel du peptidoglycane.(19)**

Chez les bactéries à **Gram positif**, le peptidoglycane est le principal composant de la paroi. Chez les bactéries à **Gram négatif**, la couche du peptidoglycane est mince et la paroi a une structure plus complexe. À l'extérieur du peptidoglycane se trouve une structure appelée Les protéines liant la Pénicillines(PLP).(8)

Glycosyltransférase, transpeptidase et carboxypeptidasesont des enzymes de la membrane cytoplasmique de la bactérie interviennent dans la dernière étape de synthèse du peptidoglycane.Le transpeptidase catalyse la réaction de la transpeptidation, le stade final de synthèse de peptidoglycane, soustrait l'alanine terminaleprésente à l'extrémité de la chaîne peptidique de la sous unités du peptidoglycane. Pour former une liaison croisée avec un peptide de l'autre sous unités voisine, permettant la réticulation du peptidoglycane. (4)

Le mécanisme d'action des pénicillines telles que la pénicilline V n'est pas encore entièrement élucidé. La pénicilline V comme les autres bêta lactames ont en commun un noyau  $\beta$ -lactame.

Elles présentent une analogie structurale avec D-Alanyl-D-Alanine terminale présente à l'extrémité de la chaîne peptidique de la sous unité du peptidoglycane. On a émis l'hypothèse que les pénicillines sont liées de façon covalente par PLP (Transpeptidase) au site actif, la réaction de transpeptidation est inhibée, ce qui bloquerait la synthèse d'un peptidoglycane complet totalement ponté et conduirait à une autolyse de la bactérie. (4)

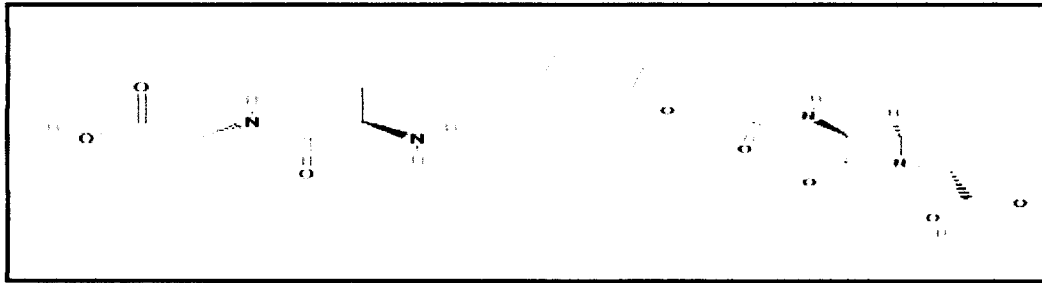


Figure N°17 : Structure de D .alanyl–D- alanine et pénicilline V (analogie structural ).

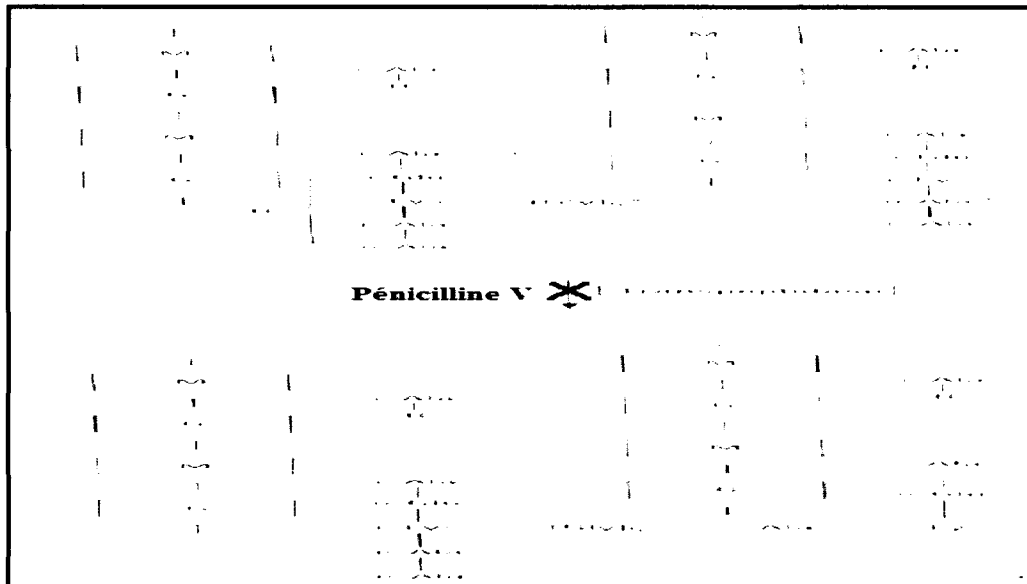


Figure N°18 : Mécanisme d'action de la pénicilline V. (42)



### **V.7.4. Indications et utilisation clinique :**

#### **V.7.4.1. Indications de la pénicilline V :**

Les indications sont définies en fonction de la sensibilité du germe responsable. La pénicilline V n'est indiquée que dans les infections mineures. En raison de sa biodisponibilité relativement faible, de la nécessité d'une administration 3 à 4 fois par jours et de son spectre antibactérien étroit. (4)

La pénicilline V est indiquée chez l'adulte et chez l'enfant dans le traitement curatif et préventif des infections suivantes : (44)

➤ **En curatif :**

- Angines documentées à streptocoque A bêta-hémolytique ;
- Infections cutanées bénignes à germes sensibles.

➤ **En prophylaxie :**

- Des rechutes de rhumatisme articulaire aigu (RAA) ;
- De l'érysipèle récidivant ;
- Des sujets contacts dans l'entourage d'une scarlatine ;
- Des infections à pneumocoques chez les splénectomisés, les drépanocytaires majeurs et les autres aspléniques fonctionnels. (44, 39)

#### **V.7.4.2. Les formes pharmaceutiques de La pénicilline V :**

La pénicilline V est commercialisée sous deux formes pharmaceutiques administrées par voie orale, comprimés et suspensions buvable. Quelques spécialités de pénicilline V sont représentés dans le tableau N°3 : (44, 12)

Tableau N°3 : Quelques spécialités de la pénicilline V. (44, 12)

DCI	Nom de marque	Forme et dosage	Le fabricant
Phénoxy méthylpénicilline acide	<b>ORACILLINE (principes)</b>	Comprimé sécable : - 1 000 000 UI	<b>UCB Pharma SA France</b>
Phénoxy méthylpénicilline sel de benzathine lécithinée	<b>ORACILLINE</b>	suspensions buvables (flacon avec une cuillère à mesure) à : - 250 000 UI / 5ml - 500 000 UI / 5ml - 1 000 000 UI / 10ml	<b>UCB Pharma SA FRANCE</b>
Phénoxy méthylpénicilline	<b>ORAPEN</b>	Comprimé sécable : -1 000 000 UI -1 500 000 UI	<b>GROUPE SAIDAL FILIALE ANTIBIOTICAL ALGERIE</b>
Phénoxy méthylpénicilline	<b>ORAPEN</b>	Poudre pour suspension buvable :  - 250 000UI / cuillère à café	<b>GROUPE SAIDAL FILIALE ANTIBIOTICAL ALGERIE</b>

### V.7.5.Mode d'administration et posologie :

#### V.7.5.1.Mode d'administration :

La pénicilline V est administrée par voie orale, et peut être pris, indépendamment des repas :

- Comprimé : cette forme est réservée à l'adulte et à l'enfant de plus de 6 ans, les comprimés sont avalés avec un verre d'eau.
- Suspension buvable : cette présentation est plus adaptée à l'enfant âgé de moins de 6 ans, bien agité avant chaque emploi. Utiliser la cuillère à mesure fournie graduée (5 ou 10ml) pour mesurer la quantité de produit à administrer.(39, 12)

### V.7.5.2.Posologie :

#### ➤ En curatif :

La posologie quotidienne doit être fractionnée en 2 à 3 prises pour les angines, voire en 3 ou 4 prises pour les autres indications.

- Adulte : 2 000 000 à 4 000 000 UI/jour.
- Nourrisson et enfant jusqu'à 40 kg : 50 000 à 100 000 UI/kg/jour.

Durée de traitement : la durée de traitement des angines est de 10 jours. Pour éviter les complications tardives (Rhumatisme articulaire aigu), le traitement des infections dues au streptocoque bêta-hémolytique doit être de 10 jours. **(44, 12)**

#### ➤ En prophylaxie :

En complément des vaccinations, une antibioprophylaxie par la pénicilline V doit être prescrite chez les splénectomisés, les aspléniques fonctionnels, ainsi que les drépanocytaires majeurs. En pratique, la pénicilline V s'administre en deux prises quotidiennes. **(51)**

#### ❖ Nourrisson et enfant :

- jusqu'à 10 kg : 100 000 UI/kg/jour ;
- de 10 kg à 40 kg : 50 000 UI/kg/jour sans dépasser 2 000 000 UI/jour ;

La prophylaxie est à débiter dès que le diagnostic est fait pour le drépanocytaire.

Elle est à poursuivre au moins jusqu'à l'âge de 5 ans pour le drépanocytaire et au moins pendant les 5 années suivant le geste pour le splénectomisé. **(44)**

- ❖ Adulte : 2 000 000 UI/jour ; la prophylaxie est à poursuivre au moins 2 ans après la splénectomie. **(39)**

**V.7.6.Précautions d'emploi, effets indésirables et contre-indications de la pénicillineV:**

Les précautions d'emploi, les effets indésirables et les contre-indications sont indiqués dans le **tableau N°4** .

**Tableau N°4:** Précaution d'emplois, effets indésirables et contre- indications de la pénicilline V. (39,44, 12)

Précautions d'emploi	Effets indésirables	Contre-indications
<p>- La survenue de toute manifestation allergique impose l'arrêt du traitement.</p> <p>- L'administration de pénicilline nécessite un interrogatoire préalable, devant des antécédents allergique typique à bêtalactamines.</p> <p>- En cas de fièvre supérieure ou égale à 38,5 °C chez un drépanocytaire ou un splénectomisé ou un asplénique fonctionnel, un avis médical immédiat est recommandé.</p> <p>-En raison de la présence de saccharose, la suspension buvableest contre-indiquée en casd'intolérance au fructose, de syndrome de malabsorption du glucose et du galactose ou dedéficit en sucrase-isomaltase.</p>	<p>-Manifestations allergiques (fièvre,urticaire,éosinophilie, œdème de Quincke, Exceptionnellement choc anaphylactique).</p> <p>-Troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées, langue noire en cas de traitement prolongé).</p> <p>-Réactions hématologiques réversibles : anémie, thrombocytopénie, leucopénie, troubles de la coagulation.</p>	<p><b>Absolues :</b></p> <p>-Allergie aux antibiotiques de la famille des bêtalactamines (pénicillines et céphalosporines) : tenir compte du risque d'allergie croisée avec les antibiotiques du groupe des céphalosporines.</p> <p><b>Relatives :</b></p> <p>-Méthotrexate.</p>

### V.7.7. Interactions médicamenteuses :

- **Association déconseillée:**

Méthotrexate : augmentation des effets et de la toxicité hématologique du Méthotrexate par inhibition de la sécrétion tubulaire rénale par les pénicillines. (44)

- **Problèmes particuliers :**

Des nombreux cas d'augmentation de l'activité des anticoagulants oraux ont été rapportés chez des patients recevant des antibiotiques. Le contexte infectieux ou inflammatoire marqué, l'âge et l'état général du patient apparaissent comme facteurs de risque. Dans cette circonstance, il apparait difficile de faire la part entre la pathologie infectieuse et son traitement dans la survenue du déséquilibre de l'INR (International Normalized Ratio).(44)

### V.7.8.GROSSESSE ET ALLAITEMENT

- **Grossesse :**



Les études chez l'animal n'ont pas mis en évidence d'effet tératogène. En l'absence d'effet tératogène chez l'animal, un effet malformatif dans l'espèce humaine n'est pas attendu.

En effet, à ce jour, les substances responsables de malformations dans l'espèce humaine se sont révélées tératogènes chez l'animal au cours d'études bien conduites sur deux espèces.

En clinique, les résultats des études épidémiologiques semblent exclure un effet malformatif ou foetotoxique particulier de la pénicilline V. En conséquence, la pénicilline V, dans les conditions normales d'utilisation, peut être prescrite pendant la grossesse. (39)

- **Allaitement :**

Le passage de la pénicilline dans le lait maternel est faible et les quantités ingérées très inférieures aux doses thérapeutiques. En conséquence, l'allaitement est possible en cas de prise de cet antibiotique. Toutefois, interrompre l'allaitement (ou le médicament) en cas de survenue de diarrhée, de candidose ou d'éruption cutanée chez le nourrisson. (44)



**ETUDE  
EXPÉRIMENTALE**

## IDENTIFICATION ET CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE DE LA PENICILLINE V ACIDE MATIÈRE PREMIÈRE :

### ❖ Objectif scientifique et protocole expérimental :

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de Contrôle de Qualité du complexe ANTIBIOTICAL de MEDEA, dont l'objectif est l'identification et le contrôle de la qualité physico-chimique d'une matière première la pénicilline V acide inscrite sous le numéro de lot : N° 16 AP 191, selon la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition (USP 35) dont les dates de fabrication et de ré-analyse sont respectivement : 01 /2016 et 01/2018.

### I. CARACTÈRES :

#### I.1. Caractères organoleptiques :

L'adjectif organoleptique est utilisé pour qualifier une substance qui favorise l'excitation d'un récepteur sensoriel. Ainsi le goût, la texture, l'odeur ou encore l'aspect visuel constituent les principales propriétés organoleptiques de la substance. Plus généralement, les qualités organoleptiques sont définies comme étant l'ensemble des propriétés mesurées par les différents sens de l'individu. Jugées dans le cadre d'une analyse sensorielle, ces propriétés peuvent permettre de dégager un profil sensoriel. (73)

Les caractères organoleptiques de la pénicilline V acide matière première, auxquels la pharmacopée américaine (USP 35) fait référence sont **l'aspect, la couleur et l'odeur.**

#### ➤ Mode opératoire:

Par une appréciation visuelle, nous avons examinés l'aspect et la couleur de la matière première sur une feuille blanche.

## I.2. Cristallinité :

### ❖ Principe :

La forme cristalline détectée à l'aide du microscope optique polarisant permet de détecter la couleur des cristaux.

### ➤ Mode opératoire :

Étaler sur une lame une petite quantité de la matière première, puis placer la lame sur le microscope optique et observer avec Gx40 puis Gx100.

## I.3. Solubilité :

### I.3.1. Définition :

La solubilité est le nombre de parties en volume du liquide nécessaire pour dissoudre une partie en masse de la substance considérée. Elle est déterminée par addition progressive de solvant jusqu'à complète dissolution. La solubilité peut être exprimée de diverses façons. La pharmacopée européenne exprime la solubilité en terme de volume du solvant nécessaire pour dissoudre 1 g de substance. (36)

La solubilité dans les différents solvants concernés est indiquée dans la pharmacopée européenne (8<sup>ème</sup> édition) de façon à couvrir plusieurs classes de solubilité, comme présenté dans le **tableau N°5**.



**Tableau N°5:** Classes de solubilité décrites par la pharmacopée européenne 8<sup>ème</sup>

édition 2014.

Classes de solubilité.	Volumes approximatifs de solvant en ml/g de substance.
Très soluble	Inférieur à 1
Facilement soluble	de 1 à 10
Soluble	de 10 à 30
Assez soluble	de 30 à 100
Peu soluble	de 100 à 1000
Très peu soluble	de 1000 à 10000
Pratiquement insoluble	Plus de 10000

Le terme (partiellement soluble) est utilisé dans le cas d'un mélange dont seuls certains constituants se dissolvent. Le terme (miscible) est utilisé dans le cas d'un liquide miscible en toutes proportions avec le solvant indiqué.

↓ **Réactifs :**

- Ethanol 96° (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)(SIGMA-ALDRICH®) ;

-Acétone (PARNEAC®).

➤ **Mode opératoire :**

-Nous avons testés la solubilité de la matière première dans l'eau distillée, l'acétone et l'éthanol 96°.

▪ **Solubilité dans l'eau distillée :**

- Nous avons pesé 0.02g de la matière première à l'aide d'une balance électrique de précision dans une fiole jaugée de 200ml ;

- Nous avons complété avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge afin d'y dissoudre la prise d'essai.

### ▪ Solubilité dans l'éthanol 96°:

-Nous avons pesé 0, 5g de pénicilline V acide matière première à l'aide d'une balance analytique de précision dans un tube à essai ;

- Nous avons ajouté à l'aide d'une pipette, 5ml d'éthanol 96° afin d'y dissoudre la prise d'essai.

### ▪ Solubilité dans l'acétone :

- Nous avons pesé 0, 5g de pénicilline V acide matière première à l'aide d'une balance analytique de précision dans un tube à essai ;

-Nous avons ajouté à l'aide d'une pipette 5ml d'acétone sous hotte afin d'y dissoudre la prise d'essai.

## II.IDENTIFICATION :

Le but de l'identification est de confirmer l'identité de la pénicilline V acide. Pour cela la pharmacopée américaine USP 35 préconise la spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge.

### II.1. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge :

#### ❖ Introduction :

**Frédéric Herschel** découvrit le rayonnement infrarouge en 1800. En mesurant des températures dans différentes zones du spectre solaire, il constata que le maximum se situait à des longueurs d'ondes plus élevées que celle du domaine visible. Ces radiations furent appelées infrarouges par **Becquerel** vers 1870. (30)

La spectroscopie infrarouge IR est une méthode analytique utilisée pour l'identification des molécules et plus précisément, de leurs groupements fonctionnelles. Cette méthode est basée sur l'absorption d'énergie apportée par une onde électromagnétique, absorption qui conduit à des vibrations. (16)

Il y'a trois types d'appareils à l'infrarouge dans les laboratoires modernes :Les spectrophotomètres dispersifs, les spectromètres à transmission de Fourier(FTIR) et

Le photomètre à filtre. Les deux premiers sont utilisés pour obtenir des spectres complets servant à l'identification qualitative, tandis que les photomètres à filtre sont conçus pour les études quantitatives. (43)

### ❖ Principe de la spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge :

Le terme spectroscopie se referait à une branche scientifique où la lumière (en fait, le rayonnement visible) était décomposée selon ses différentes longueurs d'ondes pour engendrer des spectres : Des graphiques d'une fonction de l'intensité du rayonnement selon la longueur d'onde ou de la fréquence. Au cours du temps, la signification du terme spectroscopie s'est élargie pour inclure des études relatives non seulement à la lumière mais également aux autres types de rayonnement électromagnétique tels que les rayons X, le rayonnement ultraviolet, le rayonnement infrarouge, les micro-ondes et les ondes radio. (20)

L'infrarouge analytique met à profit la plage des radiations électromagnétiques comprise entre 0.78 et 1000  $\mu\text{m}$  pour identifier ou doser des composés par des procédés basés sur l'absorption ou la réflexion de la lumière par l'échantillon. Cette bande spectrale est divisée en trois domaines :

- Le proche infrarouge (le plus énergétique) qui s'étend de 14 000 à 4000  $\text{cm}^{-1}$  (0,78-2,5  $\mu\text{m}$  en longueurs d'onde) ;
- L'infrarouge moyen qui va de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$  (2,5-25  $\mu\text{m}$ ) ;
- L'infrarouge lointain, qui couvre le domaine spectral de 400 à 10  $\text{cm}^{-1}$  (25-1000  $\mu\text{m}$ ).

Bien que le domaine du proche infrarouge soit pauvre en absorptions spécifiques, il a pris une grande importance dans les laboratoires de contrôle comme moyen d'analyse quantitative. Le domaine du moyen infrarouge est, par contre, plus riche en informations sur les structures des composés examinés. (18, 58)

Les spectrophotomètres infrarouge sont adaptés aux mesures du spectre dans la région de 4000  $\text{cm}^{-1}$  à 670  $\text{cm}^{-1}$  (2,5  $\mu\text{m}$  à 15  $\mu\text{m}$ ) ou éventuellement jusqu'à 200  $\text{cm}^{-1}$  (50  $\mu\text{m}$ ). (34)

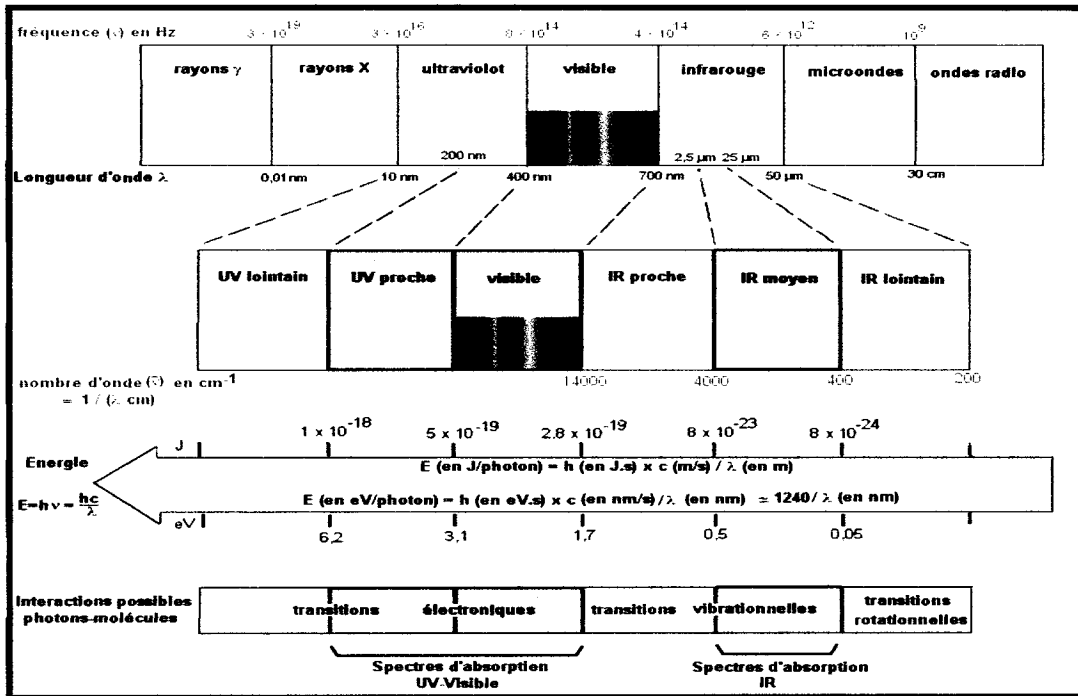
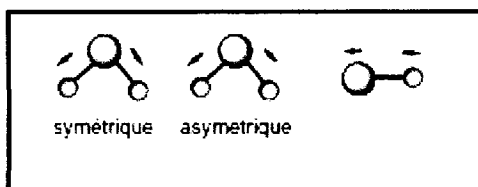


Figure N°19 : Domaines du spectre électromagnétique.(67)

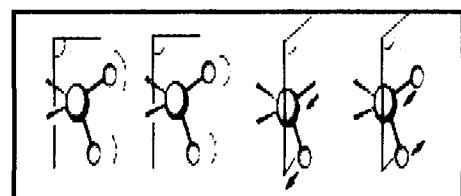
L'énergie apportée par l'onde électromagnétique permet le passage de la molécule, d'un état stable à un état excité. Lorsque l'énergie apportée correspond à l'énergie nécessaire au passage à l'état excité, la longueur d'onde est absorbée (quantification).

Seules ces longueurs d'onde sont absorbées, les autres sont transmises ou ne sont pas retenues. Il se trouve que l'énergie absorbée est corrélée à l'énergie de liaison ; l'énergie absorbée est spécifique des deux atomes liés et du type de la liaison. Autrement dit, on observe une absorption spécifique de la liaison AB, différente de la liaison A=B et de la liaison A-C. (16)

L'énergie absorbée est convertie en mouvement des atomes dans la molécule ; on distingue les vibrations d'élongation (le long des liaisons) et de déformation (hors de l'axe de la liaison) Pour une liaison AB, on peut observer plusieurs bandes caractéristiques correspondant à des mouvements d'élongation et de déformation.(16)



Vibration d'élongation



vibration de déformation

### II.2. Identification de Pénicilline V acide par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge :

Notre substance a été identifiée en utilisant un spectrophotomètre à transformée de Fourier dont la méthode de préparation des échantillons est la pastille (méthode KBr) sans séchage de l'échantillon.

- **Le spectromètre à transformée de Fourier :**

Les appareils de spectromètre à transformée de Fourier ne contiennent aucun élément dispersif, toutes les longueurs d'onde sont détectées et mesurées simultanément. Pour séparer les longueurs d'onde, il faut moduler le signal de la source de manière à ce qu'il puisse ensuite être décodé par une transformation de Fourier, opération mathématique qui nécessite un ordinateur puissant. Contrairement aux spectrophotomètres dispersifs le spectrophotomètre à transformée de Fourier ayant beaucoup des avantages comme une sensibilité très élevée, une résolution et une vitesse d'acquisition des données particulièrement élevées (un spectre complet peut être relevé en moins d'une seconde). Ces avantages sont compensés par la complexité des appareils et leur coût élevé. (43)

Un spectrophotomètre FT-IR est composé de **cinq éléments** essentiels :

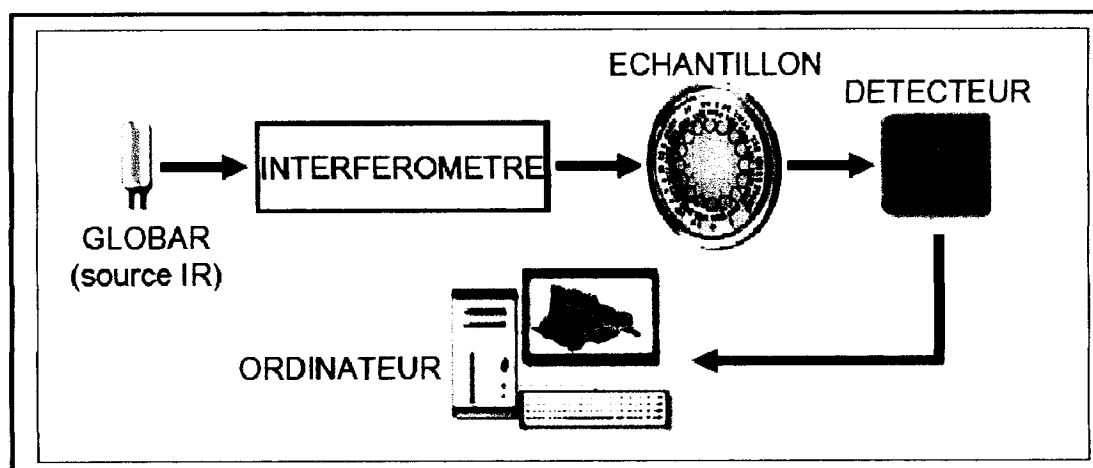
- **Une source lumineuse IR :** est une source polychromatique qui émet des radiations IR .
- **Un interféromètre :** est une pièce essentielle de ce type de spectromètre est souvent de type Michelson, placé entre la source lumineuse et l'échantillon.
- **Un compartiment échantillon.**
- **Un détecteur ou capteur photosensible :**

Le principe de détection des photons du domaine de l'infrarouge repose sur l'effet thermique des radiations. Pour les spectromètres à transformée de Fourier, le détecteur, qui doit pouvoir suivre les modulations rapides de l'intensité lumineuse, est un :

- **Cristal pyroélectrique :** le plus souvent rencontré comporte un monocristal de sulfate de triglycine deutériée (DTGS) ou de tantalate de lithium (LiTaO<sub>3</sub>), placé en sandwich entre deux électrodes, dont l'une, semi-transparente, reçoit l'impact du faisceau optique. Le cristal se polarise proportionnellement au rayonnement reçu. Il se comporte comme un condensateur et ne répond qu'aux variations de température.

- **Semi-conducteur du type photodiode** : générant une différence de potentiel par l'absorption de photons et leur sensibilité est améliorée lorsque ces détecteurs sont refroidis à la température de l'azote liquide.

➤ **Un convertisseur analogique-numérique** : qui interroge le détecteur à des intervalles réguliers et transforme le signal analogique en un signal numérique manipulable par le système informatique. (18)



**Figure 20:** Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR.

- **Appareillage:**

- Spectrophotomètre FT-IR : **PERKIN ELMER FT-IR system**
- Presse hydraulique 15 tons : **SPECAC**.

- **Réactifs :**

- Bromure de potassium (KBr), poudre. **PERKIN ELMER®**

- **Matières premières :**

- USP Pénicilline V RS.
- Matière première de pénicilline V acide Lot N° 16 AP 191.

- **Méthodes :**

- **Préparation de la pastille de la substance de référence ( USP Pénicilline V RS) :**

Afin d'obtenir les spectres IR de la pénicilline V standard , nous avons mélangés et broyés une très petite quantité de la substance de référence (3 mg environ) avec le bromure de potassium (KBr) (300 mg environ) pur puis nous avons comprimés la poudre dans un moule spéciale par une presse hydraulique (15 tons) sous une pression de 1.5 à 3 MP.cm<sup>-2</sup>, pour obtenir une pastille de bromure de potassium. La pastille doit être translucide et non fissurée. Ensuite, nous avons placés doucement la pastille fine sur une plaque spéciale d'IR, cette dernière est placé dans le porte-échantillon du spectrophotomètre à fin d'effectuer l'identification par un logiciel spécialisé « Spectrum BX » on obtient donc le spectre de référence.

- **Préparation de la pastille de la matière première**

On a fait les mêmes pesés de la matière première et du KBr et on a suivis les mêmes étapes précédentes, les résultats obtenus sont comparés avec le spectre de référence de la pénicilline V standard.

### III. ESSAIS LIMITÉS DE LA MATIÈRE PREMIÈRE :

#### III.1. Détermination de potentiel d'hydrogène (pH) :

❖ **Définition :**

Le pH est un nombre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse. (34)

❖ **Principe de détermination potentiométrique de pH :**

L'appareil de mesure de pH (pH- mètre) est un voltmètre habituellement gradué en unités pH. La détermination potentiométrique de pH est effectuée par mesure de la différence de potentielle entre deux électrodes plongeant dans la solution à examiner ; l'une de celle-ci est une électrode sensible aux ions hydrogène et l'autre est une électrode de comparaison, dont le pH d'une solution à examiner s'exprime par rapport à celui d'une solution de référence. (34)

• **Appareillage :**

- pH mètre (METROHM 632) ;
- Agitateur magnétique(MOTOR).

➤ **Mode opératoire :**

Il faut avoir une solution de concentration de 30 mg/ml (solution saturée) :

- Nous avons pesé 1,5g de la matière première dont nous avons solubilisé dans 50 ml d'eau distillée ;
- Nous avons ajouté un barreau magnétique et nous avons agité à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à la dissolution de la prise d'essai ;
- Nous avons rincé l'électrode du pH mètre avec l'eau distillé ;
- Nous avons calibré l'appareil avec les solutions tampons de pH différents ;
- Nous avons rincé l'électrode du pH mètre avec de l'eau distillée ;



- Nous avons plongé l'électrode dans la solution à examiner et nous avons effectué la lecture dans les mêmes conditions que pour les solutions tampons. Toutes les mesures ont été effectuées à la même température (20 °C à 25 °C) ;

- Nous avons lu la valeur du pH indiquée dans l'écran du pH mètre ;

- À la fin, nous avons rincé l'électrode et on la plongé, dans la solution de garde (KCl).

### III.2. Détermination de la teneur en eau :

Nous avons déterminé la teneur en eau dans un échantillon de notre substance active en utilisant un appareil de Karl-Fischer suivant la méthode volumétrique par voie directe. L'appareil est composé d'un dosimètre, d'une électrode et d'un godet.

#### • Méthode de Karl Fischer (KF) :

Beaucoup de produits manufacturés, de solvants et de matières premières, font l'objet du dosage de leur teneur en eau ou « taux d'humidité ». Parmi toutes les méthodes possibles, celle de **Karl Fischer** est très employée. Ce dosage, considéré comme universel, met en jeu des réactions chimiques alliées à une forme de détection électrochimique. Les appareils dédiés à ce dosage sont soit des potentiographes (titrimètres), soit des coulomètres munis d'une cellule à diaphragme.

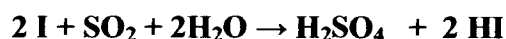
Cette dernière méthode, plus sensible, est adaptée au dosage de très faibles concentrations en eau (de l'ordre du mg/L). (18)

Le dosage est conduit en deux étapes. Commencer par la détermination de l'équivalence en eau du réactif de KF puis l'eau contenue dans l'échantillon. Les différentes opérations se font à la suite, dans une cellule de mesure spéciale, à l'abri de l'atmosphère.

Comme pour beaucoup de dosages volumétriques, il est possible de suivre une voie de **dosage direct**, ou bien une voie de **dosage en retour**. Dans la voie directe on atteint le point d'équivalence en ajoutant juste la quantité nécessaire de réactif de Karl Fischer. Dans la voie en retour, on ajoute un excès de ce réactif, avant d'en doser l'excès en utilisant le solvant non anhydre dont on a déterminé la teneur en eau par un pré-titrage, et qui a été placé dans la burette. (9, 18)

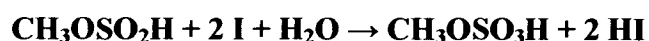
### ▪ Réaction de Karl Fischer :

En présence d'eau, l'iode réagit sur le dioxyde de soufre, pour conduire à une réaction d'oxydoréduction, spécifique à ces trois composés :



L'iode étant un solide et le dioxyde de soufre un gaz, on utilise un solvant auxiliaire polaire qui sert à la fois de diluant et de milieu réactionnel. On prend généralement le méthanol.

Dans ces conditions le dioxyde de soufre interagit avec le solvant. Ainsi avec le méthanol, il se forme de l'hydrogénosulfite de méthyle qui devient l'espèce active sur l'iode en présence d'eau :



Contrairement à la première réaction écrite, en présence de méthanol, une seule molécule d'eau réagit sur deux atomes d'iode. L'hydrogénosulfite de méthyle est oxydé en hydrogénosulfate, transformé en présence de base de type RN en un sel d'ammonium.

Finalement la réaction de **Karl Fischer** peut être reformulée ainsi :



Avec la pyridine, il y a formation du sel de pyridinium  $\text{ C}_5\text{ H}_5\text{ NH} + (\text{ CH}_3\text{ OSO}_3)^-$ .

La présence de vapeur d'eau atmosphérique devant être évitée, le récipient du dosage est isolé de l'atmosphère par des tubes de séchage. (9, 18)

### ▪ La solution titrante de Karl Fischer :

Les fabricants commercialisent généralement ce réactif dans deux flacons distincts : l'un contient un mélange de **dioxyde de soufre**, de **méthanol** et de **base**, l'autre l'**iode**, ou une **solution iodée**. L'utilisateur mélange les contenus des deux flacons quelques jours avant l'emploi, par ce que le titre du réactif de KF évolue au cours du temps par manque de stabilité des solutions. (18)

### • Appareillage :

- Appareil de Karl Fischer volumétrique ( **TITROLINE** ) ;
- Balance analytique (**Sartorius**).

- **Réactifs :**

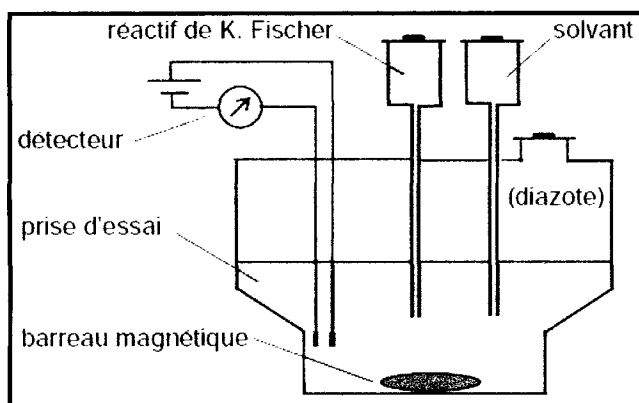
- Réactif de Karl Fischer(SIGMA-ALDRICH®) ;
- Méthanol anhydre(SIGMA-ALDRICH®) .

- ✓ **Mode opératoire :**

- Nous avons pesé à l'aide d'une balance analytique 100 mg de pénicilline V acide poudre ;
- Nous avons vérifié si la solution Karl-Fischer dans le godet n'est pas saturée ;
- Nous avons neutralisé cette solution jusqu'à l'élimination totale des traces d'eau ;
- Nous avons introduit la prise d'essai exacte (100 mg) à l'intérieure du godet, le dosage se fera automatiquement ;
- La fin du dosage automatique sera indiquée par l'allumage de la lampe située dans l'appareil ;
- En fin,Nous avons noté le volume final (V) du dosage indiqué dans le cadran.

- **Fin de titrage :**

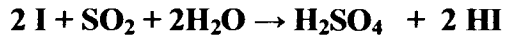
La détection du point d'équivalence est effectuée par une méthode électrique plutôt que visuelle dont la couleur passe du jaune des produits de réaction au brun du réactif en excès., l'excès entraîne la dépolérisation des électrodes, en décelant la brusque variation de tension aux bornes de deux petites électrodes polarisées de platine qui plongent dans le milieu réactionnel.(18)



**Figure N° 21 :** Dosage de l'eau par la méthode de K. Fischer.

▪ **Réaction de Karl Fischer :**

En présence d'eau, l'iode réagit sur le dioxyde de soufre, pour conduire à une réaction d'oxydoréduction, spécifique à ces trois composés :



L'iode étant un solide et le dioxyde de soufre un gaz, on utilise un solvant auxiliaire polaire qui sert à la fois de diluant et de milieu réactionnel. On prend généralement le méthanol.

Dans ces conditions le dioxyde de soufre interagit avec le solvant. Ainsi avec le méthanol, il se forme de l'hydrogénosulfite de méthyle qui devient l'espèce active sur l'iode en présence d'eau :



Contrairement à la première réaction écrite, en présence de méthanol, une seule molécule d'eau réagit sur deux atomes d'iode. L'hydrogénosulfite de méthyle est oxydé en hydrogénosulfate, transformé en présence de base de type RN en un sel d'ammonium.

Finalement la réaction de **Karl Fischer** peut être reformulée ainsi :



Avec la pyridine, il y a formation du sel de pyridinium  $\text{C}_5\text{H}_5\text{NH} + (\text{CH}_3\text{OSO}_3)^{-}$ .

La présence de vapeur d'eau atmosphérique devant être évitée, le récipient du dosage est isolé de l'atmosphère par des tubes de séchage. (9, 18)

▪ **La solution titrante de Karl Fischer :**

Les fabricants commercialisent généralement ce réactif dans deux flacons distincts : l'un contient un mélange de **dioxyde de soufre**, de **méthanol** et de **base**, l'autre **iode**, ou une **solution iodée**. L'utilisateur mélange les contenus des deux flacons quelques jours avant l'emploi, par ce que le titre du réactif de KF évolue au cours du temps par manque de stabilité des solutions. (18)

• **Appareillage :**

- Appareil de Karl Fischer volumétrique ( **TITROLINE** ) ;
- Balance analytique(**Sartorius**).

- Nous avons plongé l'électrode dans la solution à examiner et nous avons effectué la lecture dans les mêmes conditions que pour les solutions tampons. Toutes les mesures ont été effectuées à la même température (20 °C à 25 °C) ;

- Nous avons lu la valeur du pH indiquée dans l'écran du pH mètre ;

- À la fin, nous avons rincé l'électrode et on la plongé, dans la solution de garde (KCl).

### III.2. Détermination de la teneur en eau :

Nous avons déterminé la teneur en eau dans un échantillon de notre substance active en utilisant un appareil de Karl-Fischer suivant la méthode volumétrique par voie directe. L'appareil est composé d'un dosimètre, d'une électrode et d'un godet.

- **Méthode de Karl Fischer (KF) :**

Beaucoup de produits manufacturés, de solvants et de matières premières, font l'objet du dosage de leur teneur en eau ou « taux d'humidité ». Parmi toutes les méthodes possibles, celle de **Karl Fischer** est très employée. Ce dosage, considéré comme universel, met en jeu des réactions chimiques alliées à une forme de détection électrochimique. Les appareils dédiés à ce dosage sont soit des potentiographes (titrimètres), soit des coulomètres munis d'une cellule à diaphragme.

Cette dernière méthode, plus sensible, est adaptée au dosage de très faibles concentrations en eau (de l'ordre du mg/L). (18)

Le dosage est conduit en deux étapes. Commencer par la détermination de l'équivalence en eau du réactif de KF puis l'eau contenue dans l'échantillon. Les différentes opérations se font à la suite, dans une cellule de mesure spéciale, à l'abri de l'atmosphère.

Comme pour beaucoup de dosages volumétriques, il est possible de suivre une voie de **dosage direct**, ou bien une voie de **dosage en retour**. Dans la voie directe on atteint le point d'équivalence en ajoutant juste la quantité nécessaire de réactif de Karl Fischer. Dans la voie en retour, on ajoute un excès de ce réactif, avant d'en doser l'excès en utilisant le solvant non anhydre dont on a déterminé la teneur en eau par un pré-titrage, et qui a été placé dans la burette. (9, 18)

### III. ESSAIS LIMITÉS DE LA MATIÈRE PREMIÈRE :

#### III.1. Détermination de potentiel d'hydrogène (pH) :

❖ **Définition :**

Le pH est un nombre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse. (34)

❖ **Principe de détermination potentiométrique de pH :**

L'appareil de mesure de pH (pH- mètre) est un voltmètre habituellement gradué en unités pH. La détermination potentiométrique de pH est effectuée par mesure de la différence de potentielle entre deux électrodes plongeant dans la solution à examiner ; l'une de celle-ci est une électrode sensible aux ions hydrogène et l'autre est une électrode de comparaison, dont le pH d'une solution à examiner s'exprime par rapport à celui d'une solution de référence. (34)

• **Appareillage :**

- pH mètre (METROHM 632) ;
- Agitateur magnétique(MOTOR).

➤ **Mode opératoire :**

Il faut avoir une solution de concentration de 30 mg/ml (solution saturée) :

-Nous avons pesé 1,5g de la matière première dont nous avons solubilisé dans 50 ml d'eau distillée ;

- Nous avons ajouté un barreau magnétique et nous avons agité à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à la dissolution de la prise d'essai ;

-Nous avons rincé l'électrode du pH mètre avec l'eau distillé ;

-Nous avons calibré l'appareil avec les solutions tampons de pH différents ;

- Nous avons rincé l'électrode du pH mètre avec de l'eau distillée ;

### ▪ Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'eau contenue dans la prise d'essai, calculé par la relation suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = 100 \times \frac{F \cdot V}{P}$$

V : volume de réactif de KF en ml.

F: le titre de réactif de KF en mg/ml (T = 3,7103).

P : poids de l'échantillon de matière première en mg.

Teneur en eau (%): pourcentage d'eau contenue dans la prise d'essai.

### III.3. Dosage des substances apparentées dans la matière première:

La technique utilisée dans notre travail est la chromatographie liquide à haute performance « HPLC ».

#### III.3.1 : Impuretés dans la matière première :

Les impuretés, présentes dans les excipients aussi bien que dans les substances actives utilisées dans les médicaments peuvent être classées en 3 grandes catégories :

- Impuretés organiques ;
- Impuretés inorganiques ;
- Solvants résiduels.

Ces impuretés peuvent engendrer des conséquences plus ou moins graves et plus ou moins réversibles en terme de santé publique. Ces effets toxiques peuvent de plus s'exprimer aussi bien faiblement et de façon très localisée, que toucher un organe entier, voire l'organisme au complet, avec plus ou moins de virulence. Cette toxicité est à prendre en compte de façon encore plus importante pour les médicaments destinés à être administrés uniquement à des patients dont l'organisme est déjà soumis à des stress ou des complications non physiologiques. Les effets toxiques peuvent donc être potentialisés du fait de cet état général déficient présenté par les patients. (14)

Dans ces essais limites, des techniques habituellement utilisées à des fins quantitatives peuvent également être mise en œuvre. Elles servent alors généralement à déterminer la présence de substances autres que la matière première en elle-même. (14)

▪ **Impuretés organiques :**

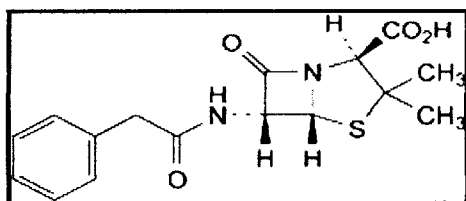
Les impuretés organiques, autres que les solvants, sont principalement composées des « Substances apparentées », constituées par les précurseurs de synthèse, les produits secondaires, les intermédiaires de synthèse ainsi que les produits de dégradation.

Il existe également une catégorie de molécules qui, selon les cas, peut être considérée soit comme faisant partie du produit de synthèse, soit comme une impureté : les isomères.

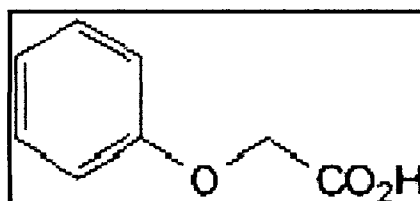
L'essai des substances apparentées a donc pour objectif de contrôler la présence d'impuretés indésirables toxiques ou non, et qu'elles ne doivent pas dépasser les seuils d'impuretés autorisés.(14)

➤ **Substances apparentées de la pénicilline V acide matière première**

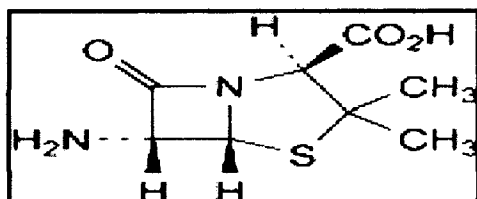
Selon la pharmacopée américaine USP 35, les principales substances apparentées de la matière première de pénicilline V acide sont :



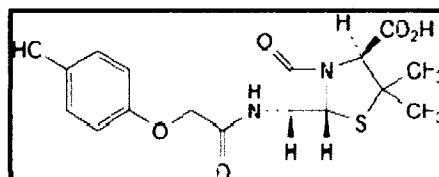
**Impureté A :** Benzylpénicilline



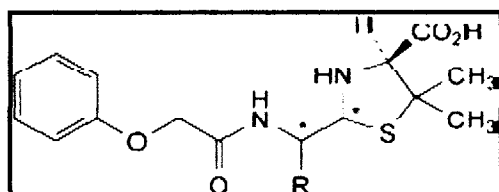
**Impureté B :** acide phénoxyacétique  
(Précurseur de synthèse).



**Impureté C :** acide 6-amino-pénicillanique.



**Impureté D :** 4.hydroxypénicilline V.



**Impureté E :** R = CO<sub>2</sub>H: Acide pénicilloïque de phénoxy méthylepénicilline.

**Impureté F :** R = H : Acide penilloïque phénoxy méthylepénicilline.



### III.3.2: CHROMATOPGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE (CLHP ou HPLC) :

▪ **Définition et principe :**

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est un type de chromatographie en phase liquide qui couvre un vaste champ d'applications analytiques.

La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse.

A l'origine, la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC). Très rapidement le P de pression est devenu le P de performance lorsque l'on a optimisé la technique (diminution de la taille des particules de la phase stationnaire, régularité de cette phase...) ce qui conduit à de grandes efficacité et résolution. (64)

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic (figure 15). (64)

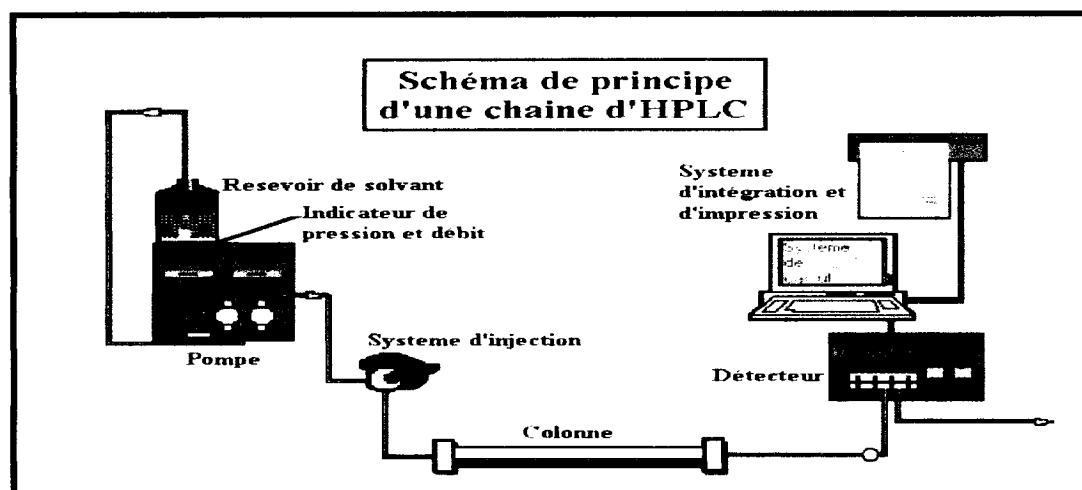


Figure N°22 : Schéma de principe d'une chaîne d'HPLC.

▪ **Appareillages :**

L'appareillage utilisé doit être capable de supporter les pressions élevées imposées par la très fine granulométrie des phases stationnaires. Il est pour cela en acier inoxydable résistant à la corrosion chimique des phases mobiles liquides.

Il est constitué essentiellement de (figure 16) :

- Un ou plusieurs réservoirs de phase mobile ;
- Un système de pompe ;
- Un système d'introduction des échantillons (système d'injection) ;
- Une colonne ;
- Un système de détection et d'enregistrement. (20)

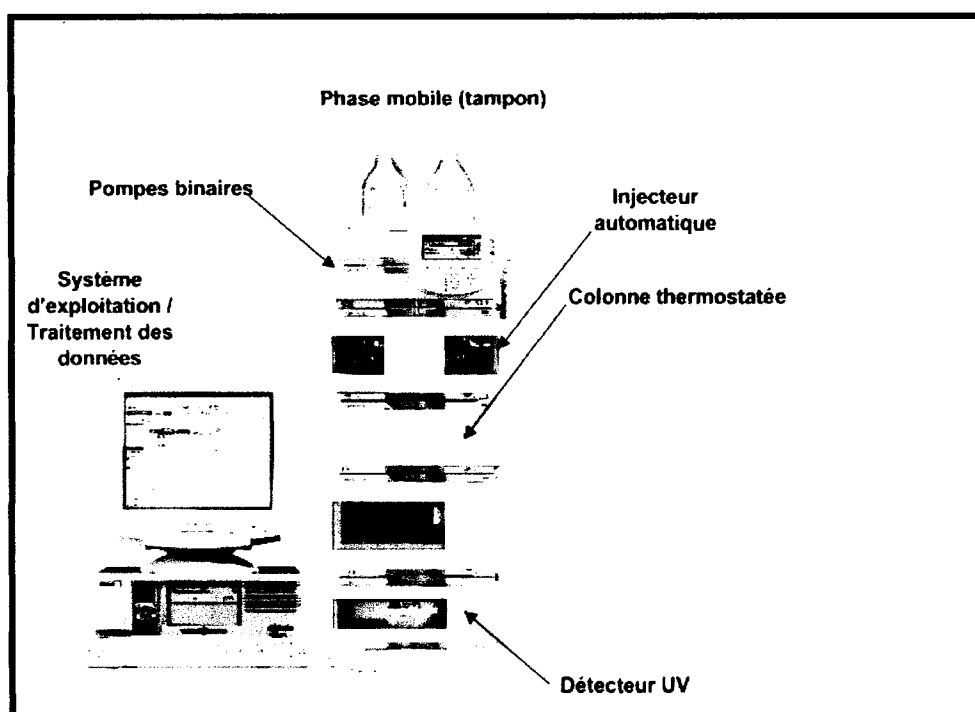


Figure N°23 : Appareil d'HPLC à injecteur automatique.

▪ **Avantages de l'HPLC :**

- L'HPLC permet la séparation, l'identification et la quantification des différents composés chimiques ;
- Elle est utilisée pour différents types de molécules (polaires, apolaires, ioniques, masses molaires élevées ou faibles) ;
- Elle offre une haute résolution avec une rapidité acceptable (environ 10 à 30 minutes).(65)

### III.3.3 : Dosage pratique des substances apparentées:

La pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition préconise la recherche de deux impuretés pour la pénicilline V: l'acide phénoxyacétique (impureté B) et le 4-hydroxypénicilline V (impureté D).

▪ **Matériels et méthodes :**

• **Appareillage :**

-Appareil de chromatographie liquide à haute performance auto injecteur :Waters<sup>®</sup> (avec logiciel EMPOWER version 3).

• **Matières premières :**

- Acide phénoxyacétique standard .
- 4-hydroxypénicilline V de référence.

• **Réactifs :**

- Acétonitrile(PARNEAC).
- Acide acétique( SIGMA ALDRICH ).
- Hydroxyde de sodium (NaOH)( SIGMA ALDRICH ).
- Phosphate de potassium monobasique( SIGMA ALDRICH ).

• **Méthodes :**

➤ **Dosage de l'acide phénoxyacétique "impureté B ":**

▪ **Préparation du diluant :**

Préparer un tampon phosphate à pH= 6.6 :

-Nous avons mélangé dans une fiole de 200 ml ; 50 ml de phosphate de potassium monobasique 0,2M et 16.4 ml d'hydroxyde de sodium 0,2 M et nous avons complété avec l'eau distillée jusqu'à trait de jauge.

-À la fin, nous avons vérifié la valeur de pH de tampon avec un pH- mètre.

➤ **Préparation de la solution de phosphate de potassium monobasique 0,2M :**

- $PM_{KH_2PO_4} = 136,09 \text{ g/mol}$ .

On a donc :  $1M \longrightarrow 136,09 \text{ g/mol}$ .

$0,2M \longrightarrow X$ .

$$X = 27,218 \text{ g.}$$

- Quantité qu'il faut prendre pour préparer 50ml de la solution 0,2M :

$$Q = \frac{27,218 \times 50}{1000} = 1,3609 \text{ g}$$

- Prendre 1.3609 g de phosphate de potassium monobasique et dissoudre dans 50ml d'eau distillé.

➤ Préparation de la solution d'hydroxyde de sodium 0,2M :

- $PM_{NaOH} = 40 \text{ g/mol}$ .

C'est-à-dire :

$40\text{g} \longrightarrow 1M$

$Y \longrightarrow 0,2M$

$$Y = 8\text{g.}$$

Préparer une solution de 1L de NaOH 0,2M, prendre 8g de NaOH et dissoudre dans 1L de l'eau distillée.

### ▪ Préparation de la phase mobile :

- Dans une éprouvette ; mélanger l'eau, l'acétonitrile et l'acide acétique, avec une proportion de (65: 35 :01) ;
- filtrer sous vide cette solution par un filtre 0,45 $\mu\text{m}$  ;
- Mettre la phase mobile dans un flacon de 1L, dégazer à bain ultrason pendant 15min, puis étiqueter.

### ▪ Préparation de la solution standard :

- Dissoudre 10mg de l'acide phénoxyacétique standard à 99.9% dans 100 ml du diluant (la solution standard doit avoir une concentration de 0.1 mg/ ml du diluant).

### ▪ Préparation de la solution à examiner :

- Dissoudre 1g de la matière première de pénicilline V acide dans 50 ml de la phase mobile (la solution de l'échantillon doit avoir une concentration de 20mg /ml de la phase mobile).

### ▪ Conditions chromatographiques :

Analyse des solutions standard et échantillon par la méthode chromatographique (HPLC) de partage dans les conditions chromatographiques suivantes :

**Tableau N°6:** les conditions chromatographiques pour le dosage de l'acide phénoxyacétique :

Type de colonne	C18 (Waters)
La longueur de colonne	25 cm
La diamètre de colonne	4,6 mm
La taille des particules dans la colonne	5µm
Débit	1 ml/min
Température	Ambiante
Détecteur	Spectrophotomètre UV
Longueur d'onde	254 nm
Volume d'injection	20 µl.

### ▪ Mode opératoire :

Laisser la phase mobile circuler dans la colonne de l'appareil d'HPLC pendant au moins 30mn, régler les conditions chromatographiques (débit, pression et la température).

On attend la stabilité de l'appareil, par l'obtention de la ligne de base dans le tracé chromatographique sur le logiciel correspondant.

### -Les injections :

Déterminer la séquence des injections sur le logiciel d'acquisition des données. Puis injecter 20 µl de chaque solution. Puis enregistrer les chromatogrammes correspondants et mesurer les pics essentiels.

- La phase mobile : 1 injection.
- Diluant : 1 injection.
- Solution standard de l'acide phénoxyacétique: 4 injections.
- Solution échantillon : 1 injection.

### ▪ Conformité de système :

- Le facteur de symétrie de standard ne doit pas être supérieure à 1,5.
- L'écart type(RSD) pour une série d'injection de standard n'est pas supérieure à 2% .

Le RSD, le facteur de symétrie sont des paramètres utilisés pour la vérification des performances du système (système de suitability).

### ▪ Formule et calcul :

- Calculer la teneur pour cent en acide phénoxyacétique en utilisant le chromatogramme obtenu avec la solution d'échantillon et en tenant compte de la teneur déclarée de l'acide phénoxyacétique de référence. Selon la formule suivante :

$$T\% = \left( \frac{AUC_{Ech}}{AUC_{STD}} \right) \times \left( \frac{C_{STD}}{C_{Ech}} \right) \times 100$$

$AUC_{STD}$ : Surface de la solution standard.

$AUC_{Ech}$ : Surface de la solution échantillon.

$C_{STD}$ : Concentration de la solution standard.

$C_{Ech}$ : Concentration de la solution échantillon.

### ▪ Critères d'acceptation :

La teneur en acide phénoxyacétique dans la matière première de pénicilline V acide doit être inférieure à 0.5 %.

### ➤ Dosage de 4-hydroxypénicilline V :

Utiliser le chromatogramme obtenu dans le dosage de principe actif dans la matière première et calculer le pourcentage de 4-hydroxypénicilline V dans la portion de pénicilline V acide à partir de la formule suivante :  $100rp/rs$

$rp$  : Aire de 4-hydroxypénicilline V.

$rs$  : Sommes des aires du 4-hydroxypénicilline V et pénicilline V acide.

$100$  : La pureté du standard de 4-hydroxypénicilline V.

#### **IV. DETERMINATION DU TITRE DE LA PENICILLINE V ACIDE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE:**

Nous avons déterminé le titre de la pénicilline V acide par chromatographie liquide d'haute performance HPLC.

- **Appareillage :**

- Appareil de chromatographie liquide à haute performance auto injecteur :Waters<sup>®</sup> (avec logiciel EMPOWER version 3) ;

- Agitateur magnétique(MOTOR)

- **Matières premières :**

- USP Pénicilline G Potassium RS ;

- USP Pénicilline V RS ;

- USP Pénicilline Potassium RS.

- **Réactifs :**

- Acétonitrile ( SIGMA ALDRICH ) ;

- Acide acétique glacial ( SIGMA ALDRICH ).

- **Méthode :**

- **Préparation de la phase mobile :**

- Dans une éprouvette, préparer une solution contenant : eau distille ; acetonitrile et acide acétique en respectant les proportions suivants (650 ; 150 ; 5,75) ;

- Filtrer la solution obtenue par un filtre 0,45 $\mu$ m ;

- Mettre la phase mobile dans un flacon,dégazer à bain ultrason pendant 15min, puis étiqueter.

- **Préparation de la solution standard de pénicilline V potassique RS :**

-Dissoudre 25 mg de pénicilline Vpotassique RS dans 10 ml de la phase mobile. (la solution standard doit contenir 2,5 mg de pénicilline v potassique par ml de la phase mobile)

- À l'aide d'un agitateur magnétique agiter la solution obtenue pendant 5 mn.

▪ **Préparation de la solution à examiner:**

- Prendre 50 mg de pénicilline V acide "matière première" dans une fiole de 20 ml. Compléter avec la phase mobile jusqu'au trait de jauge ;

- À l'aide d'un agitateur magnétique agiter la solution obtenue pendant 5 mn.

▪ **Préparation de la solution de résolution :**

- Préparer une solution dans la phase mobile contenant respectivement environ 2,5mg /ml de pénicilline G potassique standard USP et 2,5mg /ml de pénicilline V potassique standard USP :

- Dissoudre 62,5mg de pénicilline G potassique standard USP et 62.5 mg de pénicilline V potassique standard USP dans 25ml de la phase mobile.

▪ **Préparation de la solution standard de l'impureté**

**4-hydroxypénicilline V :**

- Dissoudre 10mg de 4-hydroxypénicilline V standard dans 100 ml de la phase mobile.

▪ **Conditions chromatographiques :**

Analyse des solutions standards et échantillons par la méthode chromatographique (HPLC) de partage dans les conditions chromatographiques suivantes :

**Tableau N°7:** les conditions chromatographiques pour la détermination du titre de la pénicilline V acide et le dosage de 4-hydroxypénicilline V.



Type de colonne	<b>C18 (phénomex)</b>
La longueur de colonne	<b>30 cm</b>
La diamètre de colonne	<b>4 mm</b>
La taille des particules dans la colonne	<b>5 µm</b>
Débit	<b>1 ml/min</b>
Température	<b>Ambiante</b>
Détecteur	<b>Spectrophotomètre UV</b>
Longueur d'onde	<b>254 nm</b>
Volume d'injection	<b>10 µl.</b>

▪ **Vérification de la qualité de la séparation (la résolution et la sélectivité) :**

Déterminer la séquence des injections de la solution de résolution préparée sur le logiciel d'acquisition de données :

- injection : 1
- volume injecté : 10µl
- temps : 15 min

Enregistrer les pics correspondants.

✓ **Temps de rétention relatif TRr (facteur de la sélectivité) :**

$$\alpha = \frac{t'_{R(2)}}{t'_{R(1)}} = \frac{t_{R(2)} - t_0}{t_{R(1)} - t_0}$$

$t_0$ : Temps mort ;

$t'_{R(1)}, t'_{R(2)}$  : Temps de rétention réduits des solutés 1 et 2 ;

$t_{R(1)}, t_{R(2)}$  : Temps de rétention des solutés 1 et 2 .(18, 20)

- Temps de rétention relatif est environ 0,8 pour pénicilline G-K USP et 1 pour la pénicilline V-K USP.

- ✓ **L'efficacité de la colonne** : L'efficacité d'une colonne est d'autant plus grande que le nombre de plateaux et lui-même plus important :

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{\omega} \right)^2 = 5.54 \left( \frac{t_R}{\delta} \right)^2$$

$\omega$  : Largeur du pic à la base ;

$\delta$  : Largeur du pic à mi-hauteur. (18)

-L'efficacité de la colonne est déterminée avec le pic de pénicilline V-K USP qui ne doit pas être : inférieure à 1800 plateaux théoriques.

- ✓ **Le facteur de la résolution** :

$$R = 2 \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\omega_2 + \omega_1}$$

$\omega$  : Largeur du pic à la base.

$\omega_1$  et  $\omega_2$  : Largeur des pics à la base des solutés 1 et 2. (20)

-Le facteur de résolution entre la pénicilline G-K USP et la pénicilline V-K USP ne doit pas être inférieure à 3.

### ▪ **Dosage du principe actif et l'impureté 4-hydroxypénicilline V :**

Les solutions préparées sont analysées dans des conditions chromatographiques bien définies (voir **Tableau N°7**) selon la séquence suivante :

- Blanc(phase mobile) : 1 injection.
- Solution standard de 4-hydroxypénicilline V : 1 injection.
- Solution standard de la pénicilline v potassique : 3 injections.
- Solution de la matière première : 2 injections.

Enregistrer les chromatogrammes correspondants et mesurer les pics essentiels.

### **Conformité de système :**

**L'écart type (RSD) :** pour une série d'injections n'est pas supérieur à 1.

**RESULTAT ET  
DISCUSSION**

### IDENTIFICATION ET CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE DE LA PENICILLINE V ACIDE MATIERE PREMIERE :

#### I. CARACTERES :

##### I.1. Caractères organoleptiques :

Notre matière première se présente sous forme d'une poudre blanche, avec une odeur caractéristique.

Cet aspect est conforme à la pharmacopée américaine USP 35<sup>ème</sup> édition.

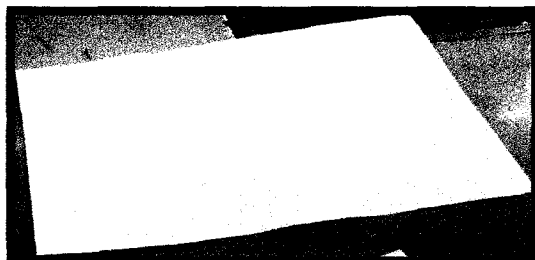


Figure N°24 :Aspect de la pénicilline V acide.

##### I. 2. Solubilité :

La poudre de la Pénicilline V acide dont nous avons testé la solubilité est très peu soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol à 96° et l'acétone, conformément à la pharmacopée américaine USP 35<sup>ème</sup> édition (figures N° : 25, 26, 27).



Figure N°25: Solubilité dans l'eau distillée.



Figure N°26 : Solubilité dans l'éthanol 96°.



Figure N° 27: Solubilité dans l'acétone.

### I.2. Cristallinité :

La forme cristalline détectée à l'aide d'un microscope optique polarisant permet de détecter la couleur des cristaux. Ce résultat est conforme aux normes exigées.

## II. IDENTIFICATION :

### ▪ Identification par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR):

Le spectre de la pénicilline V acide matière première et celui de la substance de référence pénicilline V acide USP ont été obtenus avec un logiciel « Spectrum ». Les données ont été recueillies entre  $650\text{ cm}^{-1}$  et  $2000\text{ cm}^{-1}$ .

Le spectre IR qu'on a obtenu avec la matière première est identique à celui de la substance de référence pénicilline V acide USP dont les principales bandes qui correspondent à des vibrations d'élongations et des déformations des principales liaisons caractéristiques sont les mêmes :

- La bande à  $758.33\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison C-H du cycle aromatique ;
- La bande à  $925\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration de déformation de la liaison O-H de l'acide carboxylique ;
- La bande à  $1316.66\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison C-O ;
- La bande à  $1516.66\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison C=C du cycle aromatique ;
- La bande à  $1616.66\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison N-H de l'amide ;
- La bande à  $1666.67\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison C=O de l'amide ;
- La bande à  $1678.26\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison C=O de la cétone ;
- La bande à  $1713.04\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation de la liaison C=O de l'acide carboxylique.

✓ Les spectres IR sont représentés sur les figures N°28 et 29.

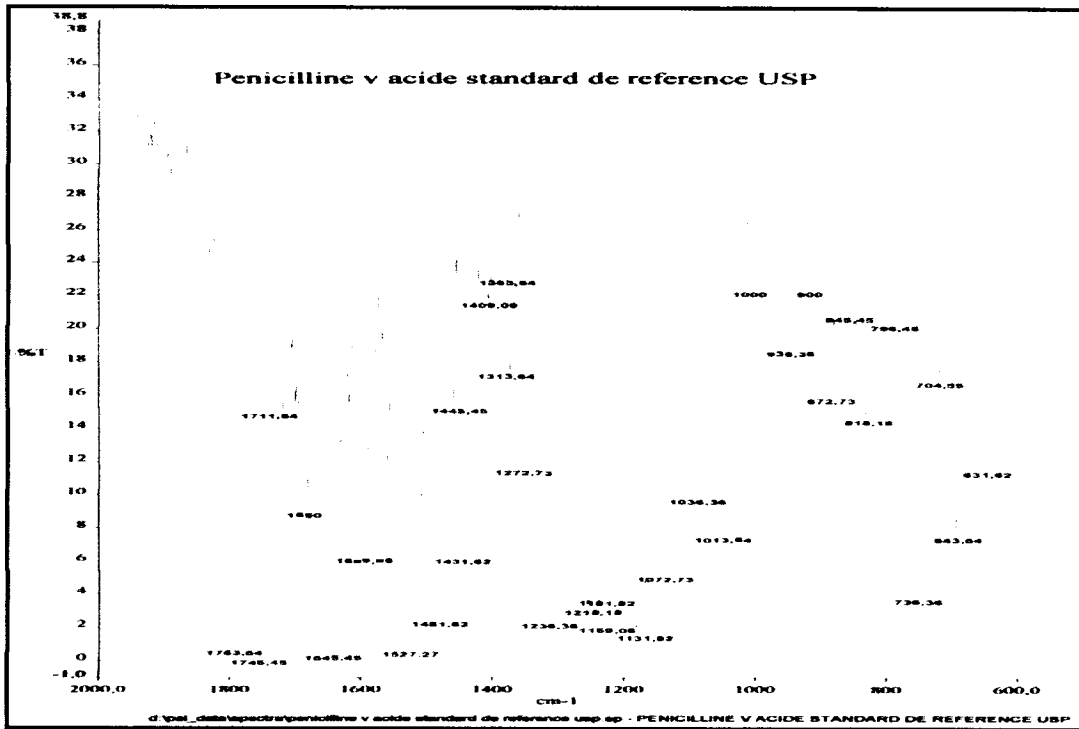


Figure N° 28: Spectre IR de la pénicilline V acide standard USP.

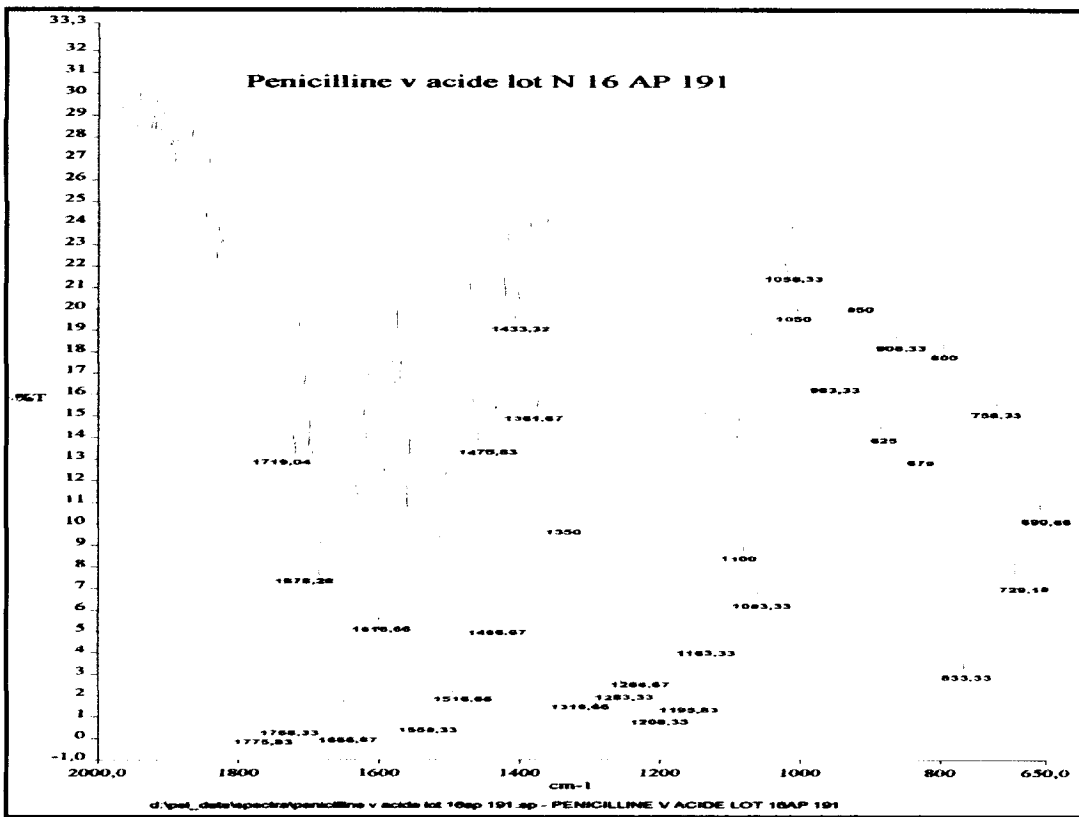


Figure N°29 : Spectre IR réalisé avec la matière première de pénicilline V acide.

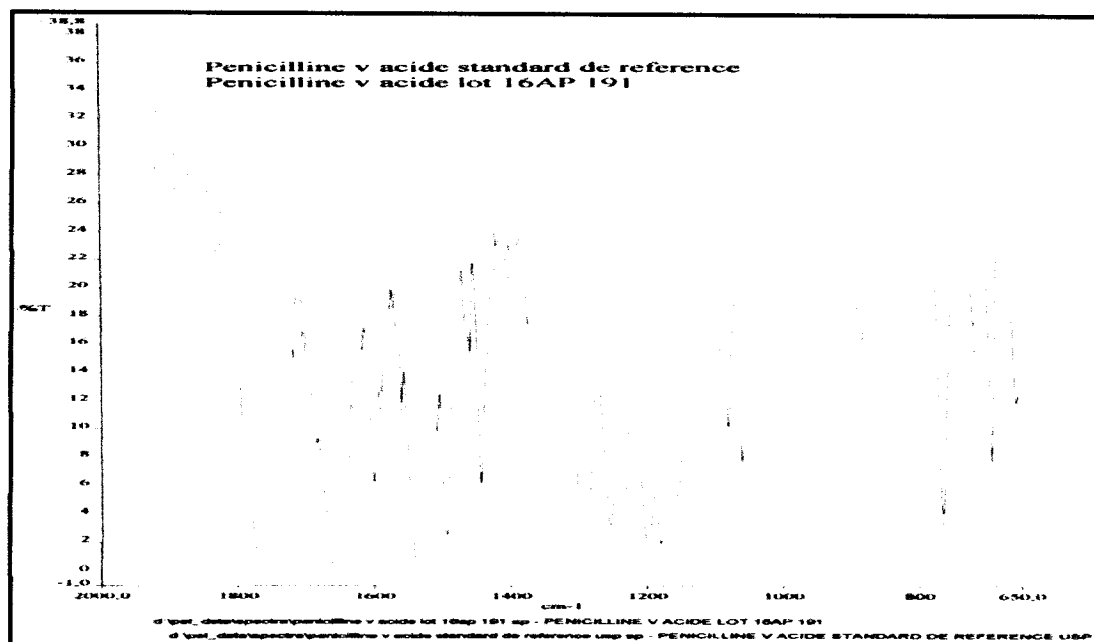


Figure N°30: Superposition du spectre IR de pénicilline V acide et du spectre de la substance de référence.

L'analyse de la matière première de la pénicilline V acide par spectroscopie d'absorption IR a permis donc de confirmer l'identité de cette substance active, les bandes essentielles représentant les vibrations des liaisons caractéristiques aux nombres d'ondes correspondants, ont permis de voir les différents éléments constitutifs de cette matière.

**III. ESSAIS LIMITES DE LA MATIERE PREMIERE :**

**III.1. Détermination de Potentiel d'hydrogène (pH) :**

La mesure du pH de la matière première a révélé une valeur de pH de 2,73. Situant dans l'intervalle préconisé par les normes de l'USP 35 c'est-à-dire entre 2,5 à 4.



**Figure N°31 :** La mesure du pH de la matière première.

**III.2. Détermination de la teneur en eau :**

$$\text{Teneur en eau (\%)} = 100 \times \frac{F.V}{P}$$

Les résultats de manipulation sont présentés dans le tableau suivant :

Volume de réactif de KF en ml	0,03
Titre de réactif de KF en mg /ml	3,7103
Poids d'échantillon de matière première en mg	102,8

D'après la formule déjà citée :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = 100 \times \frac{3.7103 \times 0.03}{102.8}$$

102.8

$$\text{Teneur en eau (\%)} = 0,11\%$$

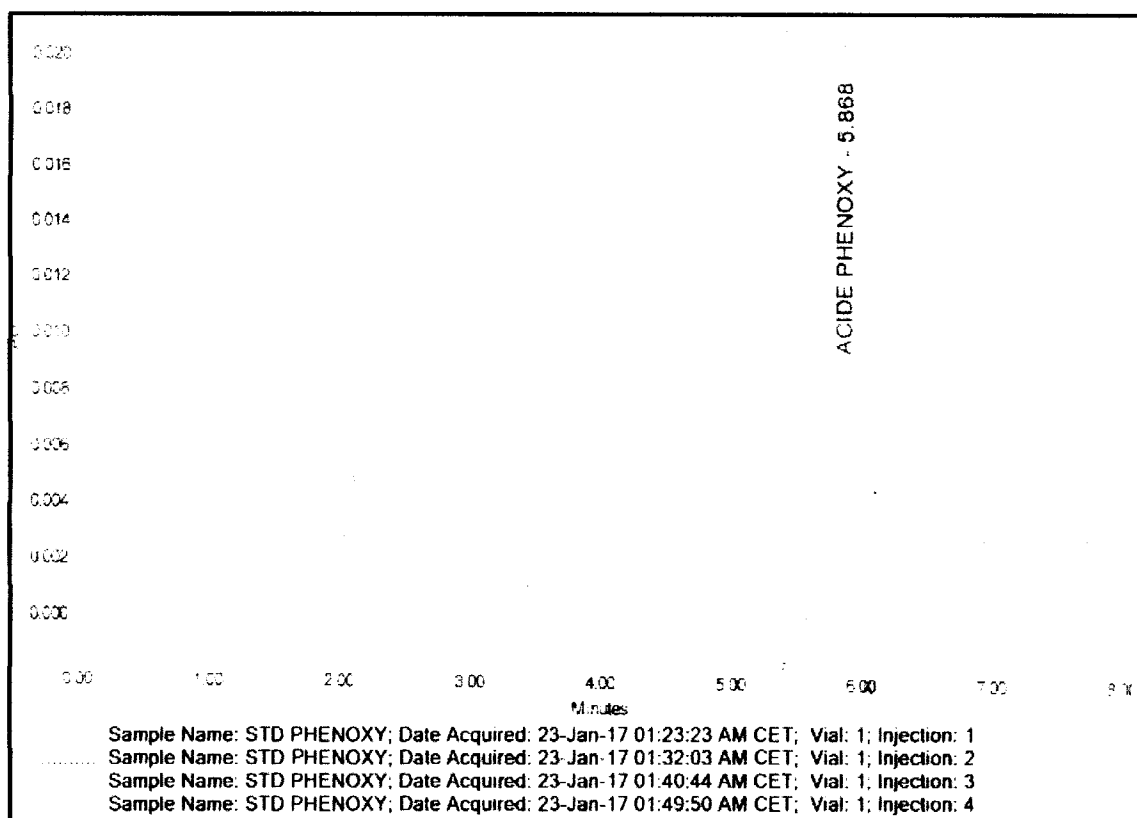
Le résultat obtenu est conforme aux normes de la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition (≤ 0,11%).



## III.3. Dosage des substances apparentées :

### ➤ Dosage de l'acide phénoxyacétique « impureté B »:

L'acidephénoxyacétique standard utilisé a une pureté de 99,9 %.



**Figure N°32:** Chromatogrammes de la solution standard de l'acide phénoxyacétique à 0,1mg /ml.

	Sample Name	Inj	Name	Retention Time(min)	%Area	%Area	Height	Symmetry Factor
1	STD PHENOXY	4	ACIDE PHENOXY	5.875	195197	100.00	20042	9.467400e-001
2	STD PHENOXY	1	ACIDE PHENOXY	5.868	193566	100.00	19675	9.483800e-001
3	STD PHENOXY	3	ACIDE PHENOXY	5.872	195001	100.00	20014	9.508306e-001
4	STD PHENOXY	2	ACIDE PHENOXY	5.870	194455	100.00	19961	9.500949e-001
	Mean				194559.9			
	%RSD				0.4			

### Conformité de système :

L'écart type (RSD) pour une série d'injection de standard est de 0,4 % donc n'est pas supérieur à 2%, conformément à la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le facteur de symétrie de standard est d'ordre 0,01 donc inférieur à 1,5 conformément à la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition.

La performance du système (système de suitability) HPLC a été donc vérifiée.

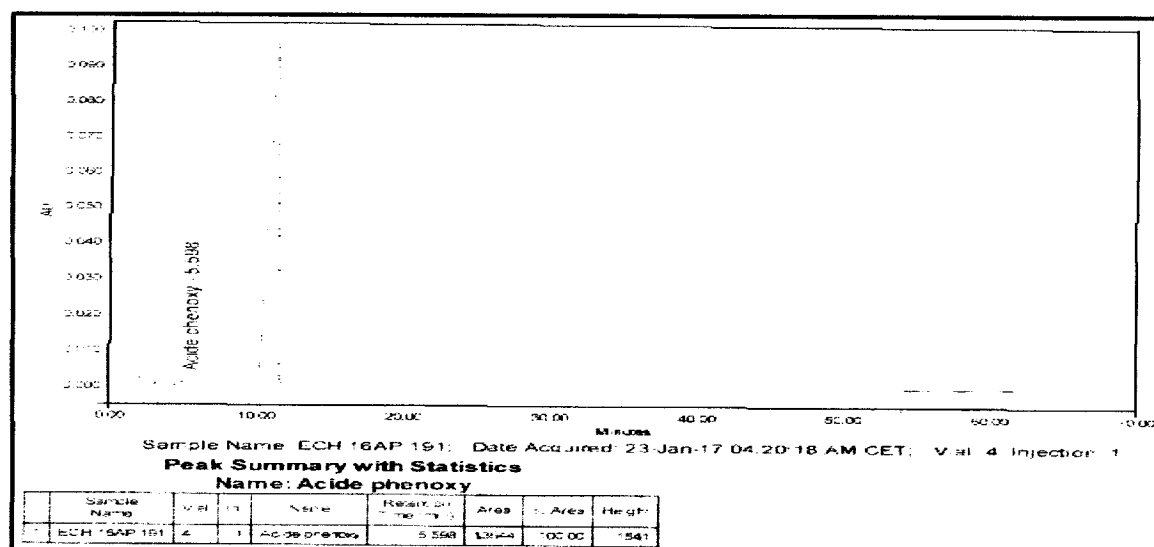


Figure N°33 : Chromatogramme de la solution à examiner à 20mg/ml.

### Interprétation qualitative du chromatogramme de la solution à examiner:

Le chromatogramme de la solution à examiner présente plusieurs pics dont un représente le temps de rétention de 5.598 minutes identique à celui de la solution standard de l'acide phénoxyacétique qui est de 5.868, ce que confirme l'identité de l'acide phénoxyacétique, conformément à la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition.

### Interprétation quantitative du chromatogramme de la solution à examiner:

La teneur en acide phénoxyacétique que nous avons obtenue est calculée selon la formule

$$T\% = \left( \frac{AUC_{Ech}}{AUC_{STD}} \right) \times \left( \frac{C_{STD}}{C_{Ech}} \right) \times 100$$

Pour la surface du pic de la solution standard on calcule la surface moyenne de 4 pics correspondants à des 4 injections :

	AUC <sub>Ech</sub>	AUC <sub>STD</sub>	C <sub>Ech</sub> (mg/ml)	C <sub>STD</sub> (mg/ml)	Teneur (%)
Valeurs	13544	19459,9	1001,4 /50	10,1/100	0,035

La teneur en acide phénoxyacétique dans la matière première est égale à 0,035%.

Ce résultat répond aux normes de la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition (inférieur à 0,5 %).

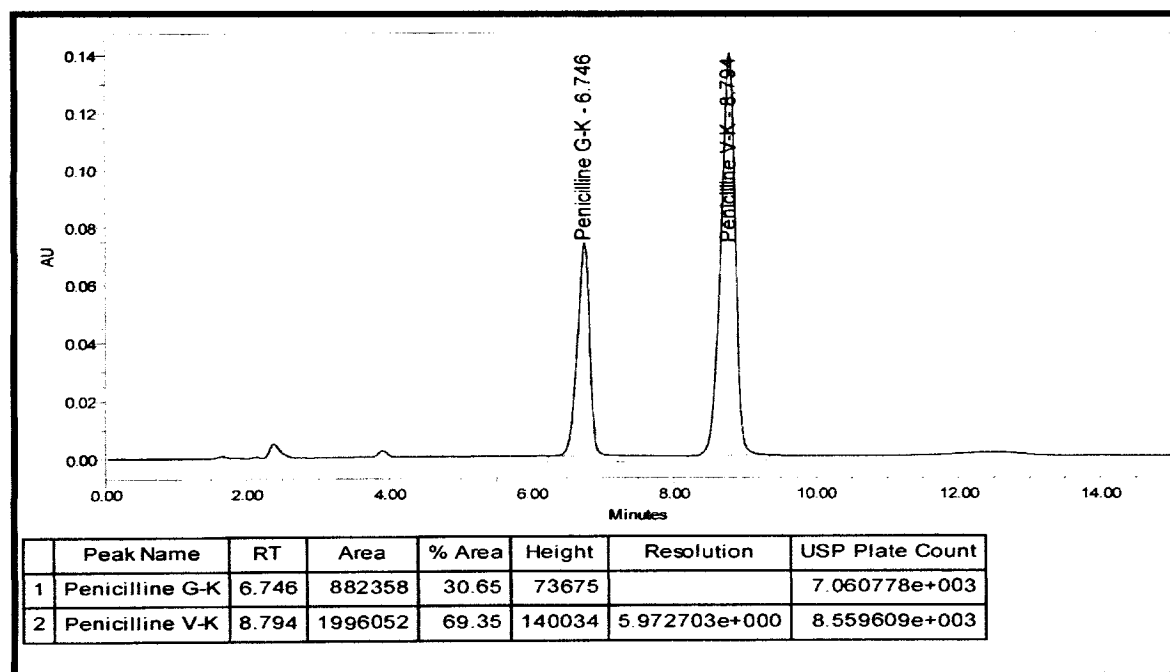
**IV. DÉTERMINATION DE TITRE DE LA PÉNICILLINE V ACIDE ET DE L'IMPURTE 4-HYDROXPÉNICILLINE V DANS LA MATIÈRE PREMIÈRE :**

▪ **Vérification de la qualité de la séparation :**

Les résultats de la vérification de la qualité de la séparation obtenus à partir du chromatogramme de la solution de résolution (figure N°34), sont représentés dans le tableau N°8 :

**Tableau N°8 :** Résultats de la vérification de la qualité de séparation :

Les paramètres	Résultats	Spécification
La résolution	5,9727	>3
Temps de rétention relatif (la sélectivité)	0,76711 pour pénicilline G-K et 1,30359 pour la pénicilline V-K standard	environ 0,8 pour pénicilline G-K standard et 1 pour la pénicilline V-K standard
Nombre de plateaux théoriques pour pénicilline V potassique standard	8559609	le pic ne doit pas être : < à 1800 plateau théorique



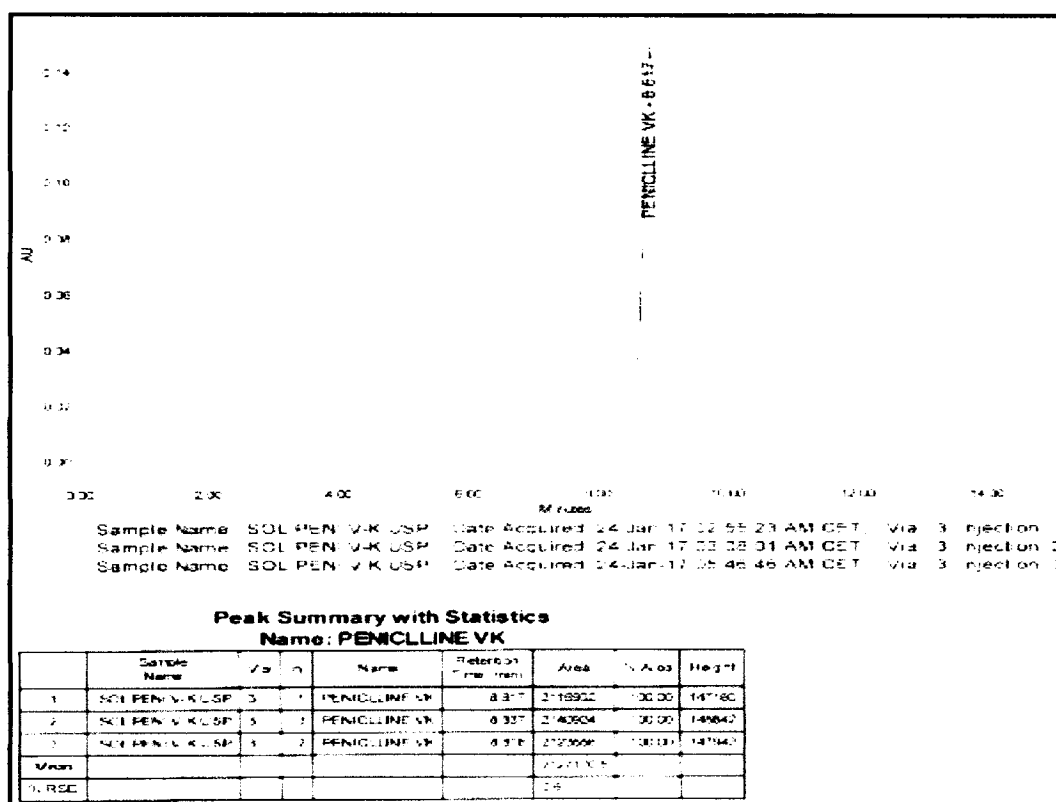
**Figure N°34 :** Chromatogramme de la solution de résolution à 2.5mg/ml.

## Interprétation du chromatogramme de la solution de résolution:

Le chromatogramme de la solution de résolution à examiner présente 2 pics dont la **résolution**, **letemps de rétention relatif** et **le nombre de plateaux théoriques** sont conformes à la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition qui indiquent que le système chromatographique est efficace ce qui va nous permettre donc la bonne séparation de composants de la matière première (principe actif et ses impuretés) et assure une bonne analyse qualitative et quantitative.

### ▪ Détermination du titre de la pénicilline V acide et de 4-hydroxypénicilline V « impureté D » :

La pénicilline V potassique USP standard utilisé a une pureté de **1522 UI/mg de pénicilline V acide**, et le 4-hydroxypénicilline V standard à une pureté de **100%**.



**Figure N° 35:** Chromatogrammes de la solution standard de pénicilline V-K USP à 2.5mg /ml.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Conformité de système à partir du chromatogramme de la solution standard de pénicilline V-K USP :

L'écart type (RSD) pour une série d'injections de la solution standard de la Pénicilline V-K USP est de 0,5% donc n'est pas supérieur à 1%, conformément à la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition, la performance du système (système de suitabilité) HPLC a été donc vérifiée.

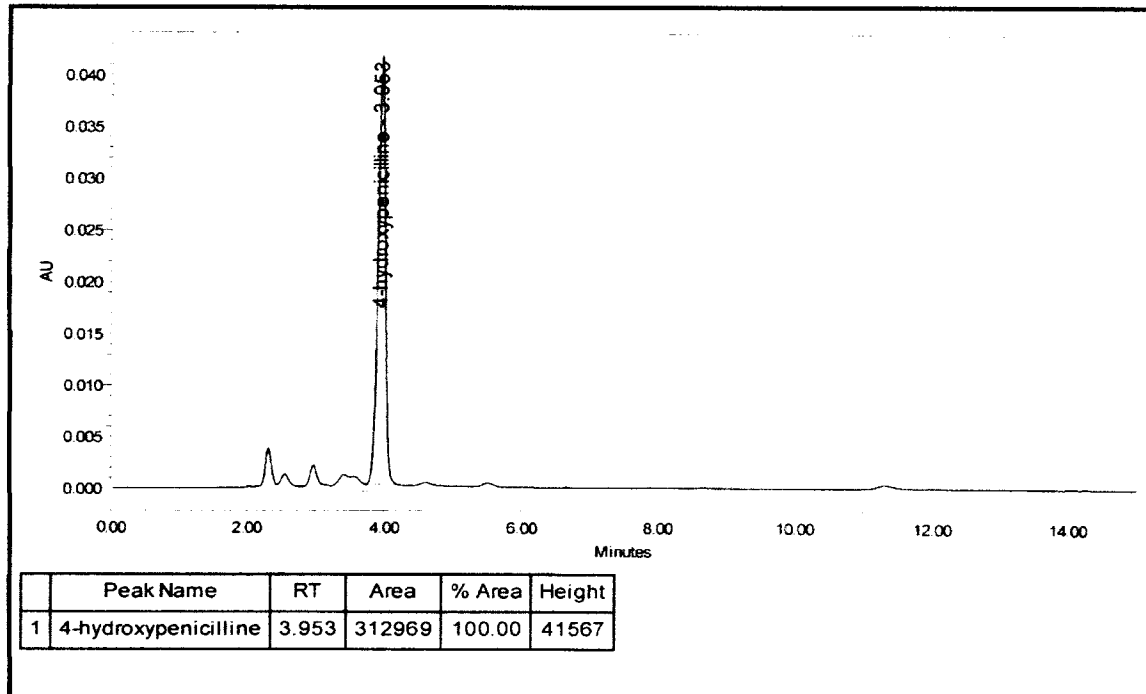


Figure N°36 : Chromatogramme de la solution standard de 4-hydroxypénicillineV à 0.1mg/ml.

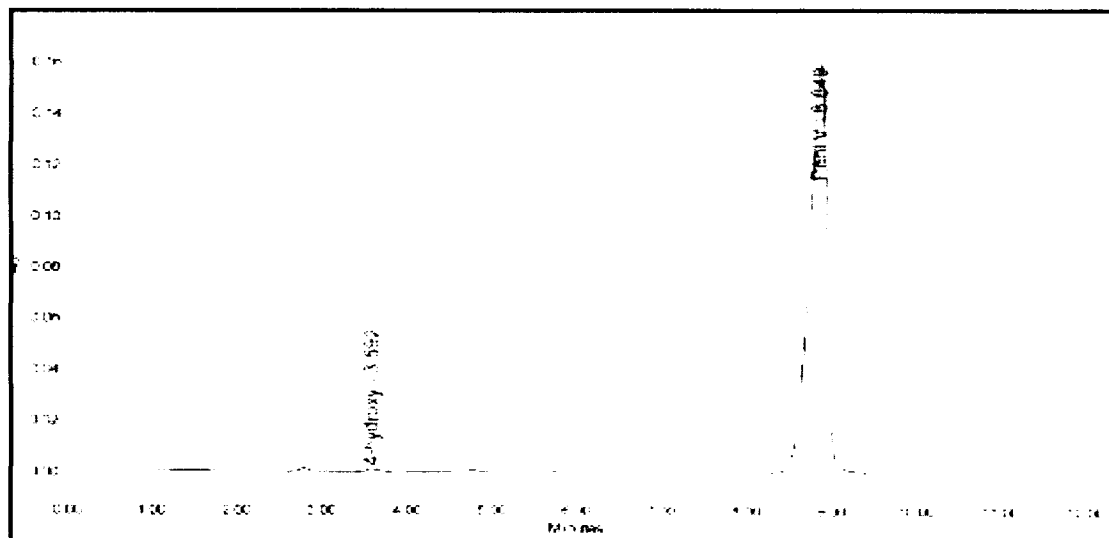


Figure N°37 : Chromatogramme de la solution à examiner à 2.5mg/ml.

	Sample Name	Inj	Name	Retention time(min)	Area	%Area	Height
1	ECH 16AP 191	2	4-hydroxy	3.592	7892	0.34	972
2	ECH 16AP 191	1	4-hydroxy	3.592	7051	0.30	861
Mean					7471.7		
% RSD					8.0		

	Sample Name	Inj	Name	Retention time(min)	Area	%Area	Height
1	ECH 16AP 191	2	Péni V	8.849	2304353	99.66	160360
2	ECH 16AP 191	1	Péni V	8.848	2306627	99.70	160792
Mean					2305489.7		
%RSD					0.1		

**Interprétation qualitative du chromatogramme de la solution standard de 4-hydroxypénicilline V et de la solution à examiner :**

Le chromatogramme de la solution à examiner présente 2 pics principaux , dont un a un temps de rétention de 3.592 minutes identique à celui de la solution standard de 4-hydroxypénicilline V qui est de 3.953, ce qui confirme l'identité de 4-hydroxypénicilline V , conformément à la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition et dont l'autre a un temps de rétention de 8,849 minutes identique à celui de la solution standard de la pénicilline V potassique USP qui est de 8.817 minutes, ce qui confirme l'identité de la pénicilline V acide, conformément à la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition .

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Interprétation quantitative du chromatogramme de la solution à examiner :**

➤ **Calcule de la teneur de pénicilline V acide dans la matière première :**

La teneur de pénicilline V acide est calculée selon la formule suivante :

$$T\% = \left( \frac{AUC_{Ech}}{AUC_{STD}} \right) \times \left( \frac{C_{STD}}{C_{Ech}} \right) \times \text{pureté}$$

Pour la surface des pics de la solution standard de pénicilline V-K USP et de la solution à examiner, on calcule la surface moyenne :

	AUC <sub>Ech</sub>	AUC <sub>STD</sub>	C <sub>Ech</sub> (mg/ml)	C <sub>STD</sub> (mg/ml)	TITRE (UI /mg de pénicilline V acide)
<b>Valeurs</b>	2305489,7	2127170,8	50.3/20	25.8/10	<b>1692 .22</b>

La teneur en Pénicilline V acide dans la matière première est égale à **1692,22UI /mg en pénicilline V acide**, cette teneur répond aux normes décrites dans la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition " 1525 à 1780 UI/mg de pénicilline V acide ".

➤ **Calcule de la teneur de l'impureté 4- hydroxypénicilline V dans la matière première :**

On utilise le chromatogramme obtenu dans le dosage de principe actif. Le pourcentage de

4- hydroxypénicilline V dans la portion de pénicilline V acide est calculé à partir de la

formule suivante :  $\frac{100 \text{ rp}}{\text{rs}}$

**rp** : Air de 4-hydroxypenicilline V ;

**rs** : Sommes des airs du 4-hydroxypénicilline V et pénicilline V acide ; **100** : La pureté de 4-hydroxy pénicilline standard .

Pour la surface des pics de la solution à examiner, on calcule la surface moyenne :

	Rp	Rs	Teneur
<b>Valeurs</b>	7471.7	7471.7+2305849.7=2312961.4	<b>0.323%</b>

La

## RESULTATS ET DISCUSSION

---

teneur en 4-hydroxy pénicilline V dans la matière première est égale à 0,323%, ce résultat répond aux normes de la pharmacopée américaine 35<sup>ème</sup> édition (inférieure à 5 %).



# CONCLUSION

### CONCLUSION

La pénicilline V acide est un antibiotique à spectre étroit. Elle est indiquée principalement dans le traitement curatif des angines documentées à streptocoque A bêta-hémolytique et les infections cutanées bénignes à germes sensibles et dans le traitement préventif des infections à pneumocoques chez les splénectomisés, les drépanocytaires majeurs et les autres aspléniques fonctionnels.

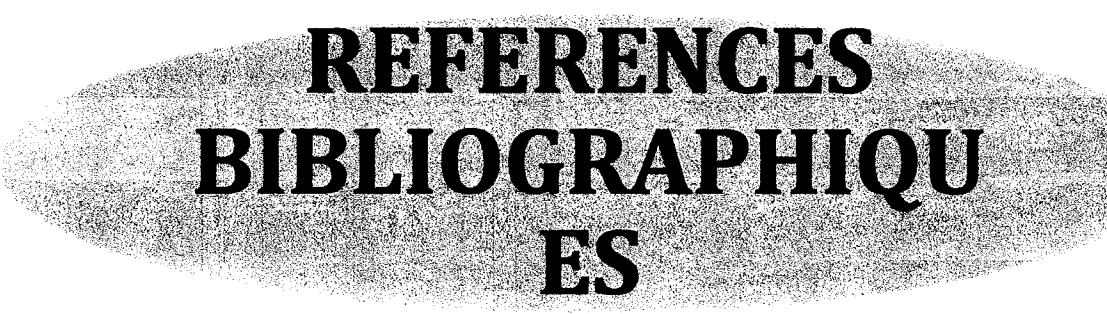

A la lumière de ce qui précède, nous nous sommes intéressés à l'identification et au contrôle physico-chimique de la pénicilline V acide matière première ainsi que le dosage de ses substances apparentés.

L'identité de cette substance a été confirmée par spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge moyen.

La détermination du titre de la substance active ainsi que le dosage de ses impuretés organiques ont été réalisés par la chromatographie liquide à haute performance.

Les résultats obtenus répondent parfaitement aux normes exigées par la Pharmacopées américaine 35<sup>ème</sup> édition.

D'après les résultats obtenus, nous pourrions conclure que notre pénicilline V acide matière première est de bonne qualité physico-chimique.



**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQU  
ES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### OUVRAGES ET THESES :

1. **Alain Le Hir, J-C chaumeil, D Brossard.** Pharmacie galénique 9<sup>ème</sup> édition 2011. Page : 10.
2. **ALLO et Al .** Pharmacie galénique BP 3<sup>ème</sup> Edition, Olivier 2013. Page : 65.
3. **André Bryskier.** Antibiotique Agent Antibactériens et Antifongiques. Ellipses 1999. Pages : 40,41,55,76, 156, 157, 158, 159,166 , 305, 374 , 949,972, 499 .
4. **BERTRAM G KATZUNG.** PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE ET CLINIQUE. traduit par la direction de Georges Lagier Paris le 23Avril 2000. Pages : 747,748,750,752.
5. **C.Carbon, B Régnier, AG saimot, J-L-Vildé, P yeni.** Médicaments anti-infectieux. Flammarion 1995. Pages : 4, 11.
6. **Cathrerine Gaudy, Jacques Buxeraud .** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique .Paris .Elsevier 2005. Pages :14, 15, 16, 17,18, 19, 20, 21, 25, 34 ,40,44,60.
7. **Charles Nauciel, Jean-Louis Vildé.** Bactériologie médicale. Elsevier Masson SAS. Paris 2000. Pages : 55, 60,62,63,64 .
8. **Charles Nauciel, Jean-Louis Vildé.** Bactériologie médicale. 2<sup>ème</sup> edition. Elsevier Masson SAS 2007. Pages :01, 25,40,44,50,57,60.
9. **Christian Ducauze.** Chimie analytique ,analyse chimique et chimiométrie. Lavoisier 2014. Pages : 146,147.
10. **Christophe Pasquier, Stephane Bertagnoli .** Virologie humaine et animale Paris Dunod 2005. Page :50.

11. **DR :DidierMallay, Patrice Bourée, Claudine colombatto, Pierre cure, Maries Françoise, Claire Manicot, Christiène méienne.** Maladies infectieuses 3<sup>ème</sup> édition 2002. Pages : 35, 36, 257.
12. Dictionnaire SAIDAL 2005.
13. **Dominique Chabasse, Martin Danis, Claude Guiguen, Dominique Richard-lenoble, Françoise Botterel, Michel Miégevill.** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales Paris : Masson 2007.Pages : 217, 220.
14. **Edouard Pont.** Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie 2011 .Pages : 23, 24 ,37,42.
15. **Elander R.P.** Industrial production of  $\beta$ -lactam antibiotics. Microbiolog, andbiotechnology: 61(5-6) 2003. Pages : 141-150.
16. **ÉVELYN Chellane et All.** Chimie organique. 3<sup>ème</sup> édition 2015.Pages : 160,162 ,163.
17. **E.PILLY.** Maladies infectieuses. APPITT 1997. Pages : 09,253, 257.
18. **Francis Rouessac, Annick Rouessac, avec la collaboration de Daniel Cruché.** Analyse chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes 8<sup>ème</sup> édition . 2016 . Pages : 175, 201,407, 408, 409,411.
19. **FRITZ H Kayser, Otto Haller, Erikc Bottger, Johannes eckert, Rolf M Zinkernagel, Peter Deplazes.** Microbiologie medical 11<sup>ème</sup> édition 2008. Page :169.
20. **GHARBI Abdelaziz.** Etude comparative de technique de contrôle de qualité de médicaments, issues de différentes Pharmacopées 2013.Thèse. Pages : 8, 9, 23, 24,26,27, 30,36,43, 44.
21. **H.J.A.Fleury.** Virologie humaine. Masson Paris 2002. Pages : 06,26.

22. **J.D.BRION, ADAM et Al.** Traité de chimie thérapeutique volume 2 médicaments et antibiotique. TEC et DOC LAVOISIER 1992. Pages : 21,23,37,38,39 ,41,42,44,48,49,51,52.
23. **JACQUES BUREXAUDE.** Infectiologie Tom I. ELSEVIER.PARIS 2000. Page : 12.
24. **J.Nicklin, K.Graeme, T.Paget, R.killington.** L'essentiel en microbiologie 2000. Pages : 166,167,168,184,189,190 ,192.
25. **Kirkiacharian.Serge.** Guide de chimie médicinale et médicaments.Edition TEC et DOC 2010. Page : 614 .
26. **Le Minor Léon,MechelVéron.** Bactériologie Médicale 1989. Pages :274 , 276, 277,278.
27. **Martin C.** Urgences et infections. édition : ARNETTE 2008. Pages :15-20.
28. **M.KHIATI.** Guide des maladies infectieuses et parasitaires . ALGER :O.P.U 2006, Pages : 11,13 .
29. **Moulin M et Coquerel A.** Abrégés de pharmacologie Masson 2<sup>ème</sup> édition 2002. Pages : 163,164,165,167,168 .
30. **Nathalie Zanier Szydlowski, John Lynch.** Analyse physico-chimique des catalyseurs industriels: manuel pratique de caractérisation. Editions TECHNIP. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge 2001 - 313 pages. [Page 243].
31. **Patrick , Graham L.** Chimie pharmaceutique Boeck diffusion 2003. Pages :390, 391, 394.
32. **Paul Lechat,Fabien Calvo, Patricia de Cpémax, Jean-PaulnGiroud, Geoges Lagier, Philippe Lechat, Bernard Rouveix, Simon Weber.** Pharmacologie médicale 5<sup>e</sup> édition Masson 1990. Pages : 137. 173.

33. Pharmacopée américaine USP 35.
34. pharmacopée Européenne 8<sup>ème</sup> édition.
35. **Prescott, Harley, Klein.** Microbiologie 2003. Pages : 792,793, 794, 820, 900, 903,904,905.
36. **P.WEHRLE .** Pharmacie Galénique 2012 . Pages : 9,10, 12, 31,107.
37. **R. Belouni, M Seghier, N Ramdani Bouguessa, A Benslimani.** Manuel de Microbiologie à l'usage des étudiants 2010. Page : 99.
38. **Raphaël DENOZ.** Pharmacien Biologiste. intérêt clinique et économique du suivi thérapeutique pharmacologique pour des médicament habituellement non contrôlés. Année académique 2009-2010.
39. **Résumé des caractéristiques du Produit ANSM-MIS** à jour le : 20 :09 :2016.
40. **ROBERT David.** Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM). Docteur en pharmacie. Année universitaire 2012-2013. Page : 41.
41. **Romain courseau, Clement ourghanlian, Diane sismeiro, Mathild louis.** INFECTIOLOGIE 2016. 2<sup>ème</sup>édition. Pages :311,321,331.
42. **Schaechter, Medoff, Eisenstein.** Microbiologie et pathologie infectieuse, BOECK.PARIS 1999. Pages : 205, 564, 567, 568, 586 , 587, 592,594, 751.
43. **Skoog , West, Holler.** Chimie analytique 7<sup>ème</sup> édition 1997. De boek et Lacier. Pages : 594,595.
44. VIDAL 2013.

45. **Y Cohen.** Pharmacologie (6<sup>e</sup> édition révisée) ELSEVIER MASSON SAS 2008. Pages 349-361.
46. **Yameogo Tene Marceline.** Antibiothérapie pratique dans le service de gynécologie-obstétrique du centre hospitalier national Yalgadoouedraogo de Ouagadougou . Docteur en médecine .Année Universitaire 1999 - 2000.
47. **Zamahon.** Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire-Hubert Koutoukou Maga(C.N .H.U.H.K.M). Thèse de doctorat d'état,université Mali. C.I.N.O 2005.

#### REVUES ET ARTICLES:

48. **André Bryskier.** Relation activité-structure des agents antibactériens ELSEVIER MASSON SAS 2006.
49. **Claire Visseaux , Fabien Calcagno.** Médicaments VG 2013. (Pharma-Memo).
50. Collection Mémoires et thèse électronique-UNIVERSITE LAVAL. les récepteur Toll-Like, octobre 2002 .
51. **D Lebrun, M Bonnet, A Limelette, C de Champs Lebrun, M Bonnet, A Limelette, C de Champs.** Pénicillines et inhibiteurs de bêtalactamases, Elsevier Masson SAS 2017.
52. **D.Mohammedi.** Classification et mode d'action des antibiotique. Médecine du maghreb 2008.
53. **H Chaussade, S Sunder a, L Bernard, P Coloby, L Guy d , G Karsenty , C Bastide , F Bruyèreet.** Les médicaments antibiotiques en urologie. Elsevier Masson SAS 2013.



54. **Jacques Buxeraud** . Les antibiotiques, des médicaments essentiels.n°499 octobre Elsevier Masson 2010.
55. **Jean.Robert**. Médecin généraliste à jour de l'article le 22/05/2010.
56. **Lebrun, M Bonnet, A Limelette, C de Champs**. Pénicillines et inhibiteurs de bêtalactamases. Elsevier Masson SAS 2017.
57. **Dr. Marie Célard**. Laboratoire de Microbiologie Hôpital Louis Pradel Lyon. DUCIV jeudi 11/01/2007.
58. **Photoniques**. article de Comprendre la spectroscopie infrarouge : principes et mise œuvre 2011.
59. **UNIVERSITE LAVAL**. les récepteur Toll-Like, octobre 2002.
60. **Véronique Jacob**. IUT de Chimie de Grenoble. la chromatographie liquide haute performance (HPLC) 22/08/2010.
61. **Y,Cohen, Jacquot**. Pharmacologie (6e édition révisée) 34– Notions Générales sur les Antibiotiques 2008.

**LIENS INTERNET :**

62. ANSM. Mise à jour 2017.
63. [www.ameli-sante.fr/angine/quest-ce-quune-angine.htm](http://www.ameli-sante.fr/angine/quest-ce-quune-angine.htm).
64. <https://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip>. Date de mise en ligne :mercredi 20 janvier 2010, Extrait du Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine – Académie de Rouen . php?article9.
65. <http://www.buyitblack.com/inconvenients-et-avantages-d-une-hplc/HPLC>, avantages et inconvénients. [en ligne] (Page consultée le 31/01/2016).
66. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01100810v2>, André Frogerais, Les origines de la fabrication des antibiotiques en France, 2015.

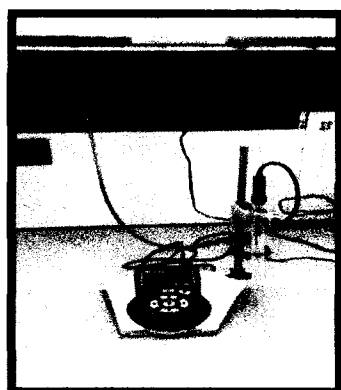
67. [http://jean-jacques.auclair.pagesperso-orange.fr/ftirUV/spectre\\_electro.htm](http://jean-jacques.auclair.pagesperso-orange.fr/ftirUV/spectre_electro.htm).
68. [www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?dr:D02405](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?dr:D02405).
69. <http://www.iupac.org/nc/home/publications/e-resources/inchi>.
70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/67076029>.
71. [www.Pharma-etudes.com](http://www.Pharma-etudes.com) Anonyme, 2016.
72. [www.Pharma-etudes.com](http://www.Pharma-etudes.com) Robirte Robinson, 1957.
73. <http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/21752-organoleptique-definition>.
74. [www.vulgaris-medical.com](http://www.vulgaris-medical.com) › Encyclopédie médicale 2000\_2017.

# ANNEXES

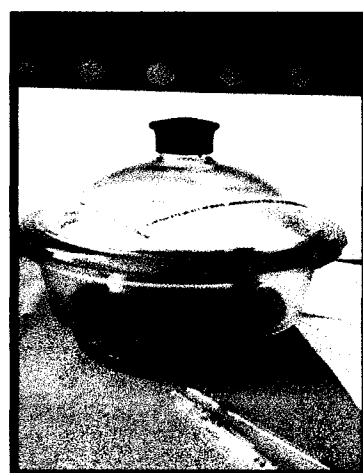
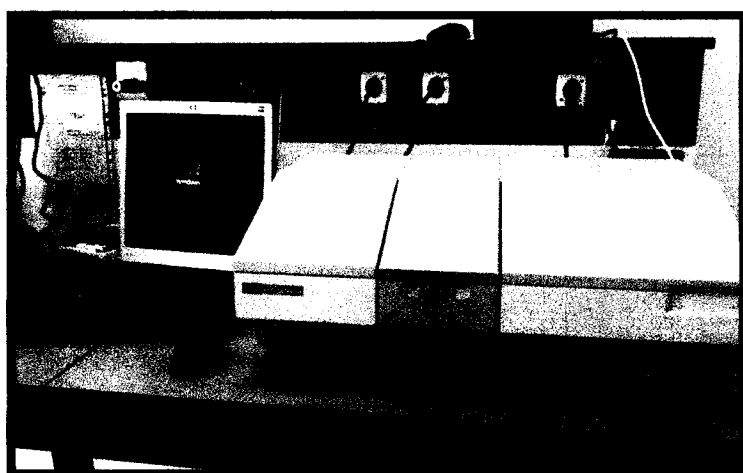




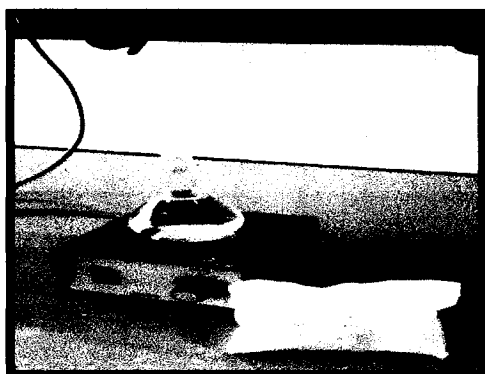
**Figure N°A1 : Pénicilline V** **Figure N°A2 : Réactif de** **Figure N°A3 : Solution**  
**acide, matière première. Karl-Fisher.** **de référence pénicilline V**



**Figure N°A4 : pH mètre** **Figure N°A5 : Balance** **Figure N°A6 : Moule de**  
**de marque Metrolim. analytique de marque sartorius. broyage.**



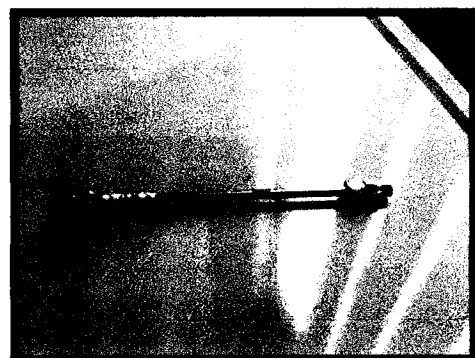
**Figure N°A7 : Spectrophotomètre FT-IR** **Figure N° A8 : Dessiccateur.**  
**de marque Spectrum BX.**



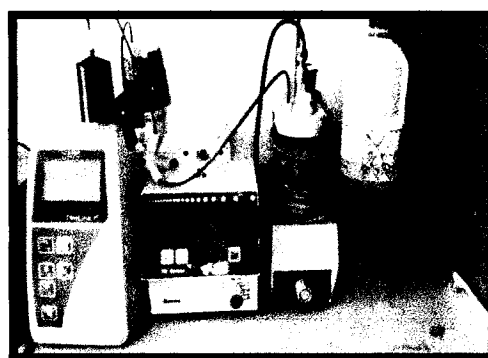
**Figure N°A9 :** Plaque chauffante de  
de marque **Jouan**. tonsde marque **Specac** .



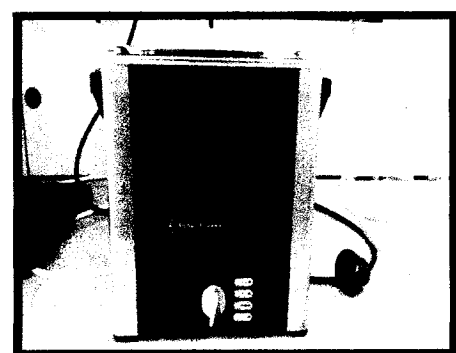
**Figure N°A10 :** Presse hydraulique 15



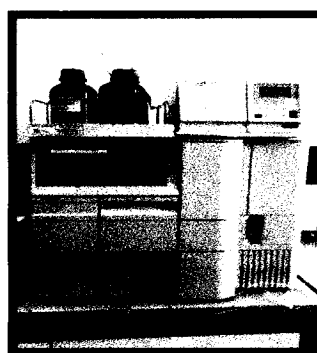
**Figure N°A11 :** Colonne C18.  
de marque **Metrolim**.



**Figure N°A12 :**Appareil de Karl Fischer



**Figure N°A13 :** Bain ultrason  
**Figure N°A14 :** Appareil de  
de marque **Fisher scientific**. chromatographieliquideà haute  
performance de marque **Waters**.





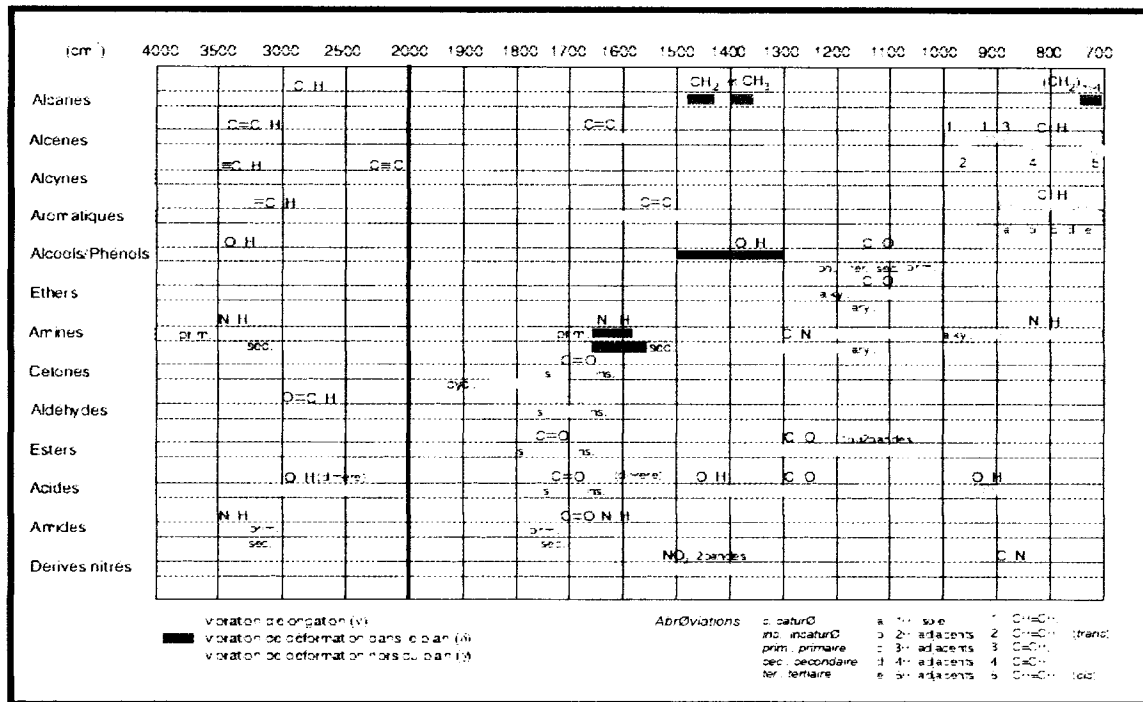


Figure N°A16 :Corrélation dans le moyen infrarouge entre groupes fonctionnels et bandes d'absorption.(18)

## RESUME

La Phénoxyéthylpénicilline (pénicilline V acide) est un antibiotique à spectre étroit, bactéricide de la famille des bêtalactamines, du groupe de pénicilline naturelle.

La pénicilline V est indiquée principalement dans le traitement curatif des angines documentées à streptocoque A bêta-hémolytique et les infections cutanées bénignes à germes sensibles et dans le traitement préventif des infections à pneumocoque chez les splénectomisés, les drépanocytaires majeurs et les autres aspléniques fonctionnels.

Notre travail a pour objectif d'identifier et de contrôler la qualité physico-chimique de la pénicilline V acide matière première en suivant la pharmacopée américaine USP 35<sup>ème</sup> édition.

A cet effet, la pénicilline V acide a été identifiée par le biais de ses caractères organoleptiques, et par son spectre d'absorption dans l'infrarouge.

La détermination de son titre et le dosage de ses impuretés organiques ont été accomplies à l'aide d'un appareil de chromatographie liquide à haute performance de marque **Waters** équipé d'un détecteur UV/VIS.

Les résultats obtenus ont montré que notre Pénicilline V acide matière première est de bonne qualité physico-chimique conformément aux normes en vigueur.

**Mots clés:** Pénicilline V acide, antibiotique, HPLC, contrôle physico-chimique, substances apparentés.



## ABSTRACT

Phenoxymethylpenicillin (penicillin V acid) is a narrow bactericidal antibiotic of the betalactamin family of the naturally occurring penicillin group.

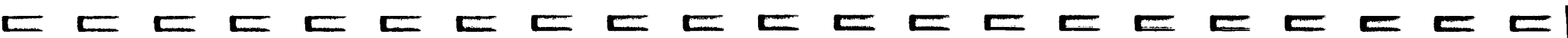
Penicillin V is indicated mainly in the curative treatment of documented beta-hemolytic streptococcal A and benign skin infections with susceptible germs, and in the preventive treatment of pneumococcal infections in splenectomized patients, major sickle-cell anemia and other functional asplenic.

Our work aims to identify and to control the physico-chemical quality of penicillin V acid raw material by following the American Pharmacopoeia USP 35<sup>ème</sup> edition. For this purpose, penicillin V acid was identified by its organoleptic characteristics and by its absorption spectrum in the infrared.

The determination of its titer and the determination of its organic impurities were carried out using a **Waters** brand high performance liquid chromatography apparatus equipped with a UV/ VIS detector.

The results obtained showed that our penicillin V acid raw material is of good physicochemical quality in compliance with the norms force.

**Keywords:** Penicilline V acid, antibiotique, HPLC, physico-chemical control, related substances.



AZOUZ Imane:

Azouz09amira@gmail.com

BENDOUMIA Mouna:

bendoumia99mouna@gmail.com

BOUAFIA Soumia:

bouafia26soumi@gmail.com

### RESUME

La Phénoxyméthylpénicilline (pénicilline V acide) est un antibiotique à spectre étroit, bactéricide de la famille des bêtalactamines, du groupe de pénicilline naturelle.

La pénicilline V est indiquée principalement dans le traitement curatif des angines documentées à streptocoque A bêta-hémolytique et les infections cutanées bénignes à germes sensibles et dans le traitement préventif des infections à pneumocoque chez les splénectomisés, les drépanocytaires majeurs et les autres aspléniques fonctionnels.

Notre travail a pour objectif d'identifier et de contrôler la qualité physico-chimique de la pénicilline V acide matière première en suivant la pharmacopée américaine USP 35<sup>ème</sup> édition.

A cet effet, la pénicilline V acide a été identifiée par le biais de ses caractères organoleptiques, et par son spectre d'absorption dans l'infrarouge.

La détermination de son titre et le dosage de ses impuretés organiques ont été accomplies à l'aide d'un appareil de chromatographie liquide à haute performance de marque **Waters** équipé d'un détecteur UV/VIS.

Les résultats obtenus ont montré que notre Pénicilline V acide matière première est de bonne qualité physico-chimique conformément aux normes en vigueur.

**Mots clés:** Pénicilline V acide, antibiotique, HPLC, contrôle physico-chimique, substances apparentés.

### ABSTRACT

Phenoxymethylpenicillin (penicillin V acid) is a narrow bactericidal antibiotic of the betalactamin family of the naturally occurring penicillin group.

Penicillin V is indicated mainly in the curative treatment of documented beta-hemolytic streptococcal A and benign skin infections with susceptible germs, and in the preventive treatment of pneumococcal infections in splenectomized patients, major sickle-cell anemia and other functional asplenic.

Our work aims to identify and to control the physico-chemical quality of penicillin V acid raw material by following the American Pharmacopoeia USP 35<sup>ème</sup> edition.

For this purpose, penicillin V acid was identified by its organoleptic characteristics and by its absorption spectrum in the infrared.

The determination of its titer and the determination of its organic impurities were carried out using a **Waters** brand high performance liquid chromatography apparatus equipped with a UV/ VIS detector.

The results obtained showed that our penicillin V acid raw material is of good physicochemical quality in compliance with the norms force.

**Keywords:** Penicilline V acid, antibiotique, HPLC, physic-chemical control, related substances.