

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**Synthèse et Caractérisation Physico-chimiques
D'un antiépileptique « Phénytoïne »**

Présenté par : **HAMITOUCHE
BENAKLI**

**RABAH
ADNANE**

Soutenu publiquement, le **03 / 07 / 2017,** *devant le Jury composé de :*

M^r	R.MOUSSAOUI	PROFESSEUR	UMMTO	PRESIDENT
M^{me}	N.HADHOUM	MAITRE ASSISTANT	UMMTO	ENCADREUR
M^r	M.MECHOUET	MAITRE CONFERENCE A	UMMTO	EXAMINATEUR
M^{me}	N.KICHOU	MAITRE CONFERENCE B	UMMTO	EXAMINATEUR

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire de chimie thérapeutique et le laboratoire de chimie appliquée et génie chimique(LCAGC) de l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou, sous la direction de docteur Nadia HADHOUM ,maitre assistant en pharmacie et de Monsieur le professeur HOCINE Smain .Nous exprimons nos sincères remerciements au docteur Hadoum et au professeur Hocine de nous avoir accueilli au sein de leur équipe, pour leur entière disponibilité et bienveillance et pour leur encouragement à nous initier à la recherche scientifique.

Nos gratitude vont également à l'ensemble des membres du jury qui ont donné leur temps pour examiner notre mémoire et apporter un regard pertinent sur notre travail. On remercie donc Monsieur le professeur MOUSSAOUI Ramdane pour avoir accepté de présider notre jury, et Monsieur Mechouet Mourad MCA et M^{me} MAKHLOUFI Malika MCA .Nous associons également à ces remerciement M^{me} LALAMI, M^{LLE} D.ALLAM, M^{ELLE} Z.TOUATTI, M^r S.CHEKNOUNE, pour qui nous exprimons notre sincère reconnaissance pour leur accueil et conseils donnés.

Nous exprimons notre gratitude envers nos familles qui ont su être la pour nous, pour leur soutien durant tout ce long cursus, et à tout les enseignants qui ont participé à notre formation.

En fin nous remercions tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail.....

A mes chers parents en témoignage de mon profond respect et amour, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez, pour tous les sacrifices. A mes très chers grands parents je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond, respect et amour.

Puisse Dieu le tout puissant vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur et aussi de vous bénir

A ma femme SARAH qui a su être ma moitié et prêter main-forte dans la vie. A mon cher frère WALID et ma chère petite sœur YASSEMINE, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je pour vous. je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Vous mérites.

A tous les membres de ma famille, petits et grands veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

A mes amis et tous ceux qui me sont chers.

Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

..... Hamitouche Rabah

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents en témoignage de mon profond respect et amour. Que dieu, le tout puissant, les préserve et leur accorde santé, longue vie et bonheur.

A la mémoire de mes très chers grands parents que dieux leur accorde sa sainte miséricorde et les accueille en son vaste paradis.

A mon cher frère said ouali, et mes très chers sœurs

A mon cher oncle Samir benakli

A tout mes amis chaque un par son nom

..... BENAKLI ADNANE

Sommaire :	pages
Introduction.....	01
Partie bibliographique	
Chapitre I : généralités sur l'épilepsie et les crises épileptiques	
1. Définition de l'épilepsie et des crises épileptiques.....	02
2. Classification et caractéristiques des crises épileptiques.....	02
2.1. Les crises généralisées.....	03
2.1.1. Les crises toniques.....	03
2.1.2. Les crises cloniques.....	03
2.1.3. Les crises tonico-cloniques.....	03
2.1.4. Les crises myocloniques.....	03
2.1.5. Les crises atoniques.....	03
2.1.6. Les crises d'absence.....	04
2.2. Les crises partielles ou focales.....	04
2.2.1. Les crises partielles simples.....	04
2.2.2. Les crises partielles complexes.....	04
2.2.3. Les crises partielles secondairement généralisées.....	05
2.3. Les crises non classifiées.....	05
3. Définition des antiépileptiques	07
4. Classification des antiépileptiques.....	07
4.1. Classification selon la chronologie.....	07
4.2. Classification selon la structure chimique.....	08
4.3. Classification selon le mécanisme d'action	09
Chapitre II: Etude pharmaco-chimique de la phénytoïne	
1. Généralités.....	10
2. Propriétés physico-chimiques de la phénytoïne.....	11
2.1. Structure chimique	10
2.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	11
2.3. Mécanisme d'action.....	11

2.4. Propriétés pharmacocinétiques.....	12
2.4.1. Absorption	12
2.4.2. Distribution	12
2.4.3. Métabolisme	12
2.4.4. Elimination	13
2.5. Toxicité.....	13

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes	14
1.1 Obtention de la phénytoïne par synthèse chimique.....	14
1.1.1 Réactifs et matériel utilisés.....	15
1.1.2. Synthèse de la benzoïne.....	16
1.1.3. Oxydation de la benzoïne en benzile.....	17
1.1.4. Synthèse de la phénytoïne.....	18
1.2. Evaluation de la qualité de la substance active synthétisée	20
1.2.1. Caractères organoleptiques	20
1.2.2. Détermination du point de fusion	20
1.2.3. Solubilité.....	21
1.2.4. Observation des cristaux de la phénytoïne par microscope électronique à balayage.....	21
1.2.5. Identification de la phénytoïne.....	22
1.2.5.1. Caractérisation de la phénytoïne par des réactions colorimétriques.....	22
a. Réaction avec le sulfate de cuivre.....	22
b. Réaction de parri.....	22
1.2.5.2. Caractérisation de la phénytoïne par des méthodes spectroscopiques.....	23
a. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge (IR).....	23
b. Spectroscopie d'absorption dans l'ultra-violet (UV).....	24
1.2.6. Evaluation du degré de coloration de la solution de phénytoïne.....	24
1.2.7. Etude de la limpidité de la solution de phénytoïne.....	28
1.2.8. Perte à la dessiccation.....	29
1.2.9. Recherche des impures par des technique chromatographiques.....	30
1.2.9.1 Recherche des impures par chromatographie sur couche mince (CCM)...	30

1.2.10. Détermination d'une limite de basicité ou d'acidité.....	31
2. Résultats et Discussion	
2.1. Explication du mécanisme réactionnel	32
2.1.1. Mécanisme réactionnel de Synthèse de la benzoïne.....	32
2.1.2. Mécanisme réactionnel d'Oxydation de la benzoïne en benzile.....	32
2.1.3. Mécanisme réactionnel de Synthèse de la phénytoïne.....	33
2.2. Calcul du rendement.....	34
2.2.1. Synthèse de la benzoïne.....	34
2.2.2. Synthèse du benzile.....	34
2.2.3. Synthèse de la phénytoïne.....	34
2.3. Evaluation de la qualité de la substance active synthétisée	34
2.3.1. Caractères organoleptiques	34
2.3.2. Détermination du point de fusion	34
2.3.3. Solubilité.....	35
2.3.2. Observation des cristaux de la phénytoïne par microscopie électronique à balayage.....	35
2.3.5. Identification de la phénytoïne.....	36
2.3.5.1. Caractérisation de la phénytoïne par des réactions colorimétriques.....	36
a. La réaction avec le sulfate de cuivre.....	36
b. La réaction de PARRI.....	36
2.3.5.2. Caractérisation de la phénytoïne par des méthodes spectroscopiques.....	37
a. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge.....	37
b. Spectroscopie d'absorption dans l'ultra-violet.....	38
2.3.6. Evaluation du degré de coloration de la solution de phénytoïne.....	39
2.3.7. Limpidité de la solution de phénytoïne.....	41
2.3.8. Perte a la dessiccation.....	41
2.3.9. Recherche des impuretés par des techniques chromatographiques.....	41
2.3.10. Détermination d'une limite de basicité ou d'acidité.....	42

Liste des tableaux

	Page
Tableau I: Classification des épilepsies et syndromes épileptiques	06
Tableau II : Classification des antiépileptiques selon l'ordre d'apparition.....	07
Tableau III: Classification des antiépileptiques selon la structure chimique.....	08
Tableau IV : Classification des antiépileptiques selon le mécanisme d'action.....	09
Tableau V : Réactifs et matériel utilisés pour la synthèse	15
Tableau VI: Echelle exprimant la solubilité d'une substance.....	21
Tableau VII: Les différentes solutions étalons pour le degré de coloration	26
Tableau VIII: les défférentes solutions témoins pour le degré de coloration.....	26
Tableau IX: Solutions témoins pour le teste de limpidité.....	29
Tableau X: Caractérisation de la phénytoïne.....	38

Listes des figures

	Page
Figure 01 : Représentation schématique de la classification des crises épileptiques.....	01
Figure 02 : Cible d'action moléculaire des différentes générations D'antiépileptiques sur la voie inhibitrice GABA- erigique et la voie activatrice glutaminergique	09
Figure 03 : Structure chimique des hydantoïnes.....	10
Figure 04 : Condensation de l'urée avec l'acide glycolique.....	10
Figure 05: Structure chimique de la phénytoïne.....	11
Figure 06 : Vue tridimensionnelle de La phénytoïne.....	11
Figure 07 : Mécanisme de l'activité antiépileptique par modulation des canaux sodiques....	12
Figure 08 : Schéma de synthèse de la phénytoïne	14
Figure 09: Le spectre électromagnétique.....	23
Figure 10 : Schéma du principe de l'appareil UV.....	24
Figure 11: Schéma de la CCM.....	30
Figure 12 : Mécanisme des réactions de synthèse de la benzoïne.....	32
Figure 13 : Equation de réaction d'Oxydation de la benzoïne en benzile.....	32
Figure 14 : Mécanisme réactionnel d'Oxydation de la benzoïne en benzile.....	33
Figure 15: Mécanisme réactionnel de Synthèse de la phénytoïne.....	33
Figure 16 : Observation au MEB de deux échantillon de la phénytoïne synthétisée à différentes échelles	35
Figure 17: Réaction de la phénytoïne avec le sulfate de cuivre.....	36
Figure 18: Réaction de PARRI.....	36
Figure 19 : Spectre infrarouge de référence.....	37
Figure 20: Spectre infrarouge de l'échantillon de phénytoïne synthétisée.....	37
Figure 21: Spectre d'absorption dans l'ultraviolet de la phénytoïne.....	39
Figure 22: Gamme étalon brune	39

Figure 23 :	Solution de la Phénytoïne comparée avec B6.....	39
Figure 24 :	Comparaison avec B6.....	39
Figure 25:	Gamme étalon jaune Brune.....	40
Figure 26:	Solution de la phénytoïne comparée avec JB6.....	40
Figure 27:	Comparaison avec JB6.....	40
Figure 28 :	Gamme étalon jaune	40
Figure 29 :	Solution de la phénytoïne comparée avec J6.....	40
Figure 30 :	Comparaison avec J6.....	40
Figure 31 :	Gamme étalon jaune verte.....	40
Figure 32 :	Solution de la phénytoïne comparée avec JV6.....	40
Figure 33 :	Comparaison avec JV6.....	40
Figure 34 :	Gamme étalon rouge	41
Figure 35 :	Solution de la phénytoïne comparée avec R6.....	41
Figure 36:	Comparaison avec R6.....	41

Liste des abréviations

LICE : La ligue internationale contre l'épilepsie

EEG : Electroencéphalogrammes

ILAE : International League Against Epilepsy

UV : Ultra-violet

I.R : Infra rouge

CCM : Chromatographie sur couche mince

Ph : Potentielle d'hydrogène

pKa : Indication de la constante d'acidité

Log p : Une mesure de la solubilité différentielle de composés chimiques

MEB : Microscope électronique à balayage

B : Solution Brune

JB : Solution jaune brune

J : Solution jaune

JV : Solution jaune verdâtre

R : Solution rouge

R% : Rendement

M (g/mol) : Masse molaire

m (g) : Masse de la substance

n (mol) : Nombre de mol

V (ml) : Volume

INTRODUCTION

Le système nerveux et le cerveau sont des structures biologiques complexes qui représentent les parties du corps humain les plus étudiées. Le système nerveux est une entité qui commande, en partie, l'ensemble de la machine qu'est l'Homme. Parmi les maladies affectant ce système on trouve l'épilepsie, qui est une maladie neurologique caractérisée par une répétition de crises épileptiques. Ces crises sont causées par un déséquilibre au niveau des synapses excitatrices et inhibitrices induisant une décharge de toute une population de neurones rapide et excessive au niveau du cortex.

Les causes sont diverses et l'épilepsie peut survenir à la suite d'un traumatisme d'ordre vasculaire, tumorale, toxique ou autre. Les crises épileptiques peuvent résulter d'une mutation génétique d'un canal ionique ou bien d'un gène de neurotransmetteur modifiant l'activité cérébrale.

Cette maladie est souvent traitée par l'administration de médicament antiépileptiques qui sont capables de supprimer ou de diminuer la fréquence ou la sévérité des crises épileptiques.

A ce jour, beaucoup de médicaments antiépileptiques existent sur le marché et leur administration se fait selon le type de crise épileptique apparu chez le patient.

Une classification officielle des antiépileptiques n'existe pas, mais on peut tout de même les classer selon l'ordre d'apparition des différentes molécules découvertes, selon la structure chimique ou selon le mécanisme d'action.

La phénytoïne, qui est un antiépileptique de première génération selon une classification chronologique, occupe une place majeure du point de vue de son efficacité contre l'épilepsie et du bon rendement du rapport efficacité / risque

L'objectif principal de notre étude était la synthèse de la phénytoïne, qui est obtenue par synthèse chimique totale, et la caractérisation physico chimique de cette dernière.

Pour atteindre cet objectif, notre travail a été organisé en trois parties :

Dans une première partie, nous avons abordé les généralités sur l'épilepsie, les antiépileptiques ainsi qu'une étude détaillée sur le plan pharmaco chimique de la phénytoïne

Dans une deuxième partie, nous avons détaillé les procédés de synthèse de la molécule ainsi que les différentes techniques de caractérisation de la molécule. Et enfin, dans une dernière partie, nous avons rassemblé l'ensemble des résultats obtenus.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Définition de l'épilepsie et des crises épileptiques

L'Epilepsie est une affection ou maladie neurologique chronique, d'étiologies diverses, caractérisée par la répétition ou la récurrence des crises, qui sont dues à des décharges paroxysmales d'une population de neurones dans le cortex cérébral, provoquant une altération de la conscience, et qui se manifeste également par des troubles moteurs, sensoriels, cognitifs ou psychiques [1]

Encore aujourd'hui l'épilepsie, reste une pathologie dont on ne connaît pas exactement tous les mécanismes impliqués ; De plus il existe différentes formes d'épilepsies. Il faut bien différencier une « crise d'épilepsie » de « la maladie épilepsie » définie par la répétition de crises. Leur classification est bien précise et peut se faire selon la localisation du siège initial de la décharge épileptique et son éventuelle propagation au reste du cortex (crises généralisées ou partielles/focales), selon les causes d'apparition des épilepsies mais également selon l'âge d'apparition. Des efforts ont été effectués pour classer les crises et les syndromes épileptiques, surtout après le premier enregistrement de l'électroencéphalogramme de l'homme en 1934. La classification a été normalisée avec l'adoption de la classification des crises d'épilepsie par la ligue internationale contre l'épilepsie (LICE) en 1981, et la classification des épilepsies et syndromes épileptiques en 1989[1,2].

2. Classification et caractéristiques des crises épileptiques

La classification des crises épileptiques différencie les crises généralisées des crises partielles (Figure 1), chose qui est très importante car chaque type de crise a ses symptômes caractéristiques et répond à des traitements spécifiques[3].

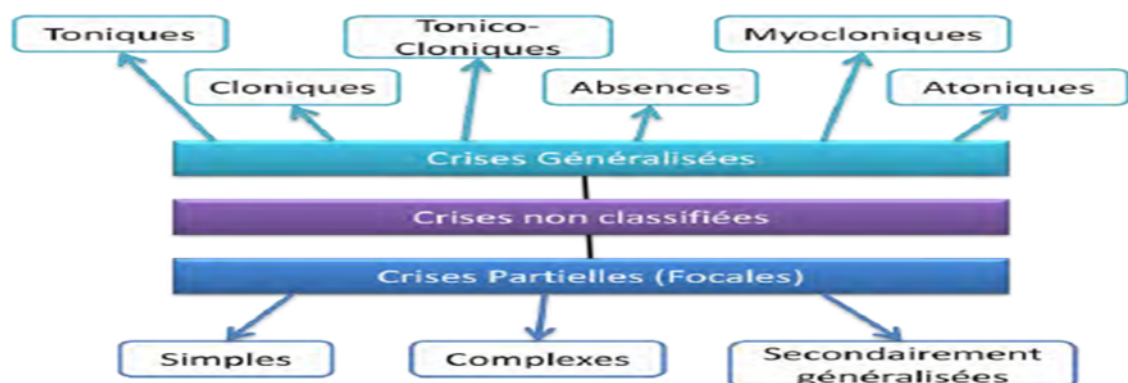


Figure 1 : Représentation schématique de la classification des crises épileptiques

2.1. Les crises généralisées

Dans le cas des crises généralisées, la décharge épileptique anormale est bilatérale et se propage dans l'ensemble du cortex cérébral. Elles peuvent être principalement généralisées (décharge bilatérale se propageant à l'ensemble du cortex dès le départ) ou secondairement généralisées (apparition corticale locale avec une propagation de la décharge bilatérale ultérieure)[4].

Ces crises se manifestent par une perte de conscience car les neurones corticaux, qui maintiennent la conscience, ne sont pas en mesure d'effectuer leurs fonctions normales[3]. Il existe différentes crises généralisées reconnues par la LICE souvent caractérisées par des symptômes moteurs ou absence d'activité motrice. Ce sont les crises toniques, cloniques, tonico-cloniques, myocloniques, atoniques ou encore les crises d'absence [1].

- **2.1.1. Les crises toniques :** se manifestent en premier lieu par une perte de conscience, mais également par une rigidité musculaire généralisée et soutenue qui contracte tous les muscles du corps et du tronc, elles sont souvent accompagnées de troubles végétatifs[4].
- **2.1.2. Les crises cloniques :** se manifestent par des secousses musculaires rythmiques bilatérales et généralisées des membres du corps[4].
- **2.1.3. Les crises tonico-cloniques :** débutent par une perte de connaissance brutale et évoluent selon 3 phases :
Une phase tonique qui dure entre 10 à 20 secondes, suivi d'une phase clonique d'environ 30 secondes, puis d'une phase résolutive ou post critique souvent précédée d'une perte d'urine, d'une morsure de la langue et d'une accumulation de salive.
Un retour à une conscience claire se fait progressivement et une confusion postcritique peut parfois durer plusieurs heures[4].
- **2.1.4. Les crises myocloniques :** se produisent sans altération de la conscience et se manifestent par des secousses musculaires violentes, brèves, bilatérales et synchrones des membres supérieurs ou inférieurs, Cela est dû à une décharge anormale dans l'aire du contrôle motrice du cerveau[4].
- **2.1.5. Les crises atoniques :** se manifestent par une perte soudaine du tonus musculaire. Cependant ces crises doivent être différenciées des autres crises car elles peuvent être non imputables à l'épilepsie[4].

- **2.1.6.Les crises d'absence :** elles touchent principalement les enfants, il y a une suspension brève de la conscience entraînant une rupture du contact (le sujet a le regard fixe et ne répond plus), parfois la crise s'accompagne de phénomènes cloniques, toniques, atoniques ou encore d'une activité végétative. Il existe deux formes de crises d'absence :
 - a) **TYPIQUES :** la durée est très brève (dizaine de secondes) avec des manifestations cloniques et atoniques discrètes.
 - b) **ATYPIQUES :** la crise a une durée plus prolongée (au delà de 2 minutes) avec des manifestations cloniques et atoniques plus marquées.

Une fois la crise d'absence passée, l'enfant reprend conscience et ne garde aucun souvenir de la crise [4].

2.2. Les crises partielles ou focales

Les crises partielles sont localisées dans une seule région du cerveau, appelée origine focale, et n'affectent qu'une partie du cerveau. Selon la partie du cerveau touchée, les crises partielles peuvent ou non être associées à des altérations de la conscience [3].

Les crises partielles se manifestent initialement par des signes cliniques focaux brefs et stéréotypés. On distingue trois groupes de crises partielles : les crises partielles simples, les crises partielles complexes et les crises partielles secondairement généralisées [1].

- **2.2.1.Les crises partielles simples :** autrefois appelées« crises focales », sont des crises qui ne provoquent pas des altérations ou une perte de la conscience car elles n'intéressent qu'une petite zone discrète du cerveau : le siège focal, et sont habituellement de courte durée. Les symptômes qui se manifestent, dépendent du siège focal ou a lieu la décharge [4]. Il existe différentes crises partielles simples qui sont motrices, sensorielles, végétatives ou psychiques [3].
- **2.2.2.Les crises partielles complexes :** elles touchent des structures centrales profondes du cerveau qui régissent la conscience[3]. Ces crises entraînent donc des altérations ou une perte de la conscience. Elles étaient autrefois appelées crises psychomotrices ou crise du lobe temporal [4]. Une crise partielle complexe peut se présenter d'abord comme une crise partielle simple avant de se propager à des régions du cerveau qui contrôlent la conscience. Elles peuvent aussi se déclarer sans avertissement avec une altération de la conscience[3]. Le sujet d'une crise partielle complexe regarde dans le vide et fait des gestes automatiques répétés avec un air

désorienté et confus. Ces mouvements sont appelés « automatisme ». La capacité de la personne à parler, à comprendre et à répondre est habituellement affectée[4].

- **2.2.3.Les crises partielles secondairement généralisées :** elles se présentent initialement comme des crises partielles. Elles se manifestent d'abord dans une région du cerveau sous forme de (crise partielle simple) ou comme un changement de la conscience (crise partielle complexe) avant de se propager à tout le cerveau pour devenir des crises généralisées, habituellement tonico-cloniques[3].

2.3. Les crises non classifiées

Les crises non classifiées sont les crises que l'on ne peut pas classer car les manifestations cliniques ou les représentations des électroencéphalogrammes (EEG) ne permettent pas de distinguer s'il s'agit de crises généralisées ou de crises partielles[4].

- La connaissance des mécanismes de l'épileptogenèse restant encore limitée, une classification syndromique fut adoptée en 1989 (voir tableau I), dans le but d'établir une catégorisation diagnostique des épilepsies (ILAE, 1989). Cette classification repose sur deux axes, symptomatologique et étiologique[1].
- **L'axe symptomatologique** distingue les crises généralisées des crises partielles ou focales.
- **L'axe étiologique** distingue
 - les épilepsies idiopathiques (dont la cause est inconnue), qui surviennent en absence de lésions apparentes du système nerveux central et dont le facteur étiologique principal est représenté par une prédisposition héréditaire
 - les épilepsies symptomatiques, qui résultent d'une lésion structurelle diffuse ou focale, évolutive ou fixe du système nerveux central
 - les épilepsies crypto géniques dont la cause est cachées, présumée symptomatique mais qui résulte d'un désordre neurologique qui échappe aux moyens d'investigation cliniques actuels.

Tableau I : Classification des épilepsies et syndromes épileptiques

1. Epilepsies et syndromes épileptiques focaux
1.1. Idiopathiques liées à l'âge
Epilepsie bénigne de l'enfance à paroxysmes rolandiques
Epilepsie bénigne de l'enfance à paroxysmes occipitaux
Epilepsie primaire de la lecture
1.2. Symptomatiques
Syndromes variés en fonction de la localisation et de l'étiologie
1.3. Cryptogéniques
Syndromes d'étiologie inconnue
2. Epilepsies et syndromes épileptiques généralisés
2.1. Idiopathiques, liées à l'âge, avec par ordre chronologique
Convulsions familiales néonatales bénignes
Convulsions néonatales bénignes
Epilepsie myoclonique bénigne de l'enfance
Epilepsie-absence de l'enfance
Epilepsie-absence de l'adolescence
Epilepsie myoclonique juvénile
Epilepsie à crises Grand Mal du réveil
(d'autres épilepsies peuvent être classées comme généralisées idiopathiques sans faire partie de ces syndromes)
2.2. Cryptogéniques et/ou symptomatiques, avec en particulier
Spasmes infantiles (syndrome de West)
Syndrome de Lennox-Gastaut
Epilepsie avec crises myocloniques précoces
Epilepsie avec absences myocloniques
2.3. Symptomatiques
2.3.1. Sans étiologie spécifique
Encéphalopathie myoclonique précoce
Encéphalopathie infantile précoce avec suppression-bursts (Sd d'Ohtahara)
Autres
2.3.2. Syndromes spécifiques
De nombreuses étiologies métaboliques ou dégénératives peuvent entrer dans ce cadre
3. Epilepsies dont le caractère focal ou généralisé n'est pas déterminé
3.1. Avec association de crises généralisées et partielles, avec en particulier
Epilepsie myoclonique sévère
Epilepsie avec pointes-ondes continues pendant le sommeil lent
Epilepsie avec aphasia acquise (syndrome de Landau-Kleffner)
3.2. Sans caractères généralisés ou focaux certains
4. Syndromes spéciaux
4.1. Crises occasionnelles, liées à une situation épileptogène transitoire
Convulsions fébriles
Crises uniquement précipitées par un facteur toxique ou métabolique
4.2. Crise isolée, état de mal isolé

D'après Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy.
Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, 1989, 30, 389-399.

2.4. L'état de mal épileptique

L'appellation « état de mal épileptique » est utilisée lors de crise de durée prolongée ou lors d'une succession de crise d'épilepsie sans récupération complète entre les deux pendant une durée supérieure à 30 minutes ce qui présente un risque vital pour l'individu atteint[2].

3. Définition des antiépileptiques

Ce sont des médicaments capables de supprimer ou de diminuer la fréquence ou la sévérité des crises épileptiques chez l'homme, ou seulement capables de modifier l'allure de la crise ou les composantes psychiques qui peuvent accompagner la maladie épileptique [5].

Un antiépileptique idéal doit avoir un large spectre d'activité pour être efficace sur plusieurs types de crises, ne doit pas être toxique pour l'organisme et doit avoir un faible taux d'interactions avec les autres médicaments. De plus, il se doit d'avoir une demi-vie relativement longue. Et naturellement, il doit supprimer le développement du réseau épileptogène et neutraliser les foyers épileptiques.

4. Classification des antiépileptiques

L'apparition de nombreuses molécules à structures diverses, rend peu commode une classification des antiépileptique, bien qu'il n'existe pas de classification de ces médicament, il est possible de les répartir selon l'ordre chronologique d'apparition (Tableau II), selon la structure chimique (Tableau III) et selon le mécanisme d'action (Tableau IV)[6].

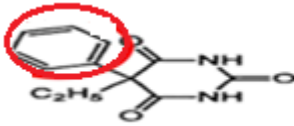
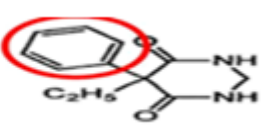
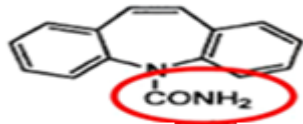
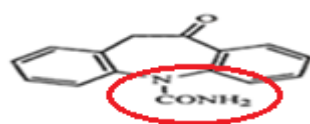
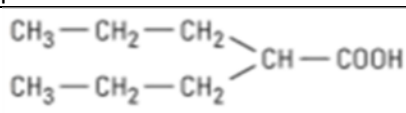
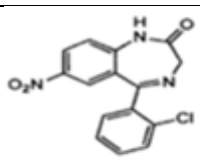
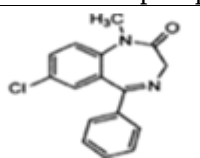
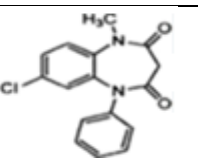
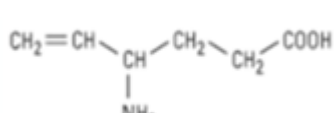
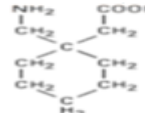
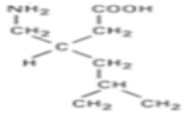
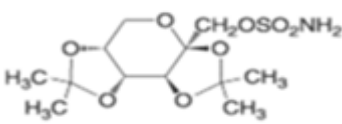
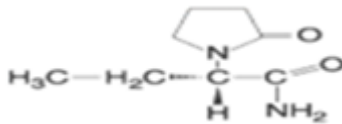
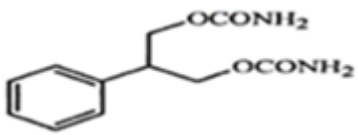
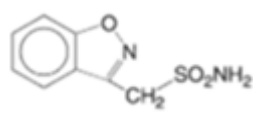
4.1. Classification selon la chronologie

Tableau II : Classification des antiépileptiques selon l'ordre d'apparition.

Molécules de 1 ^{ère} génération (AE classiques ou anciens)	Molécules de 2 ^{ème} génération (AE nouveaux, après 1990)	Molécules de 3 ^{ème} génération (AE nouveaux)
Phénobarbital (1912)	Vigabatrin (1991)	Lévétiracétam (2001)
Phénytoïne (1938)	Gabapentine (1995)	Prégabaline (2004)
Triméthadione (1946, retiré)	Felbamate (1996)	Zonisamide (2005)
Primidone (1953)	Lamotrigine (1996)	Stiripentol (2003)
Carbamazépine (1960, 1974 comme AE)	Tiagabine (1997)	Lacosamide (2008)
Ethosuximide (1962)	Topiramate (1998)	Rufinamide (développée en 2004 et approuvée en 2009)
Acide valproïque (1967)	Fosphénytoïne (1999)	Rétigabine (2011)
Benzodiazépines (diazépam , clonazépam et clobazam)	Oxcarbazépine (2000)	
Progabide (1984, retiré)		

4.2. Classification selon la structure chimique

Tableau III : Classification des antiépileptiques selon la structure chimique

Barbituriques (Position 5 : phényle)	  Phénobarbital primidone
Hydantoïnes (Position 5: phényle ou autre aromatique)	 Phénytoïne
Succinimides (Position 5 : Substituants Alkyls)	 Edhosuximide
Iminostilbènes (Position 5 : carbmyl)	  Carbamazépine Oxcarbazépine
Acides carboxyliques (Activité max 5 à 8 C)	 Acide valporique
Benzodiazépines AE	   Clonazépam Diazépam Clobazam
Dérivés du GABA	   Vigabatrin Gabapentia Pregabalia
Monosaccharide	 Topiramate
Dérivé pyrrolidine	 Levetiracetam
Autres	  Felbamate Zonisamide

4.3. Classification selon le mécanisme d'action

Tableau IV : Classification des antiépileptiques selon le mécanisme d'action

Cible et mécanisme d'action	Exemples d'anti-épileptiques
Action sur canaux sodiques	
- Blocage en stabilisant l'état d'inactivation rapide	Carbamazépine, Phénytoïne, Lamotrigine
- Blocage en stabilisant l'état d'inactivation lent	Lacosamide
Action sur canaux calciques	
- Blocage des canaux actifs à haute tension (type P/Q)	Gabapentine, Prégabaline
- Blocage des canaux actifs à faible tension (type T)	Ethosuximide
Actions en rapport avec le GABA	
- Activation des récepteurs GABA-A	Phénobarbital, benzodiazépines
- Blocage des transporteurs du GABA	Tiagabine
- Inhibition de la GABA transaminase	Vigabatrin
Actions sur SV2A	
- Modulation de SV2A	Lévitracétam
- Autres	
Actions sur canaux potassiques	Rétigabine

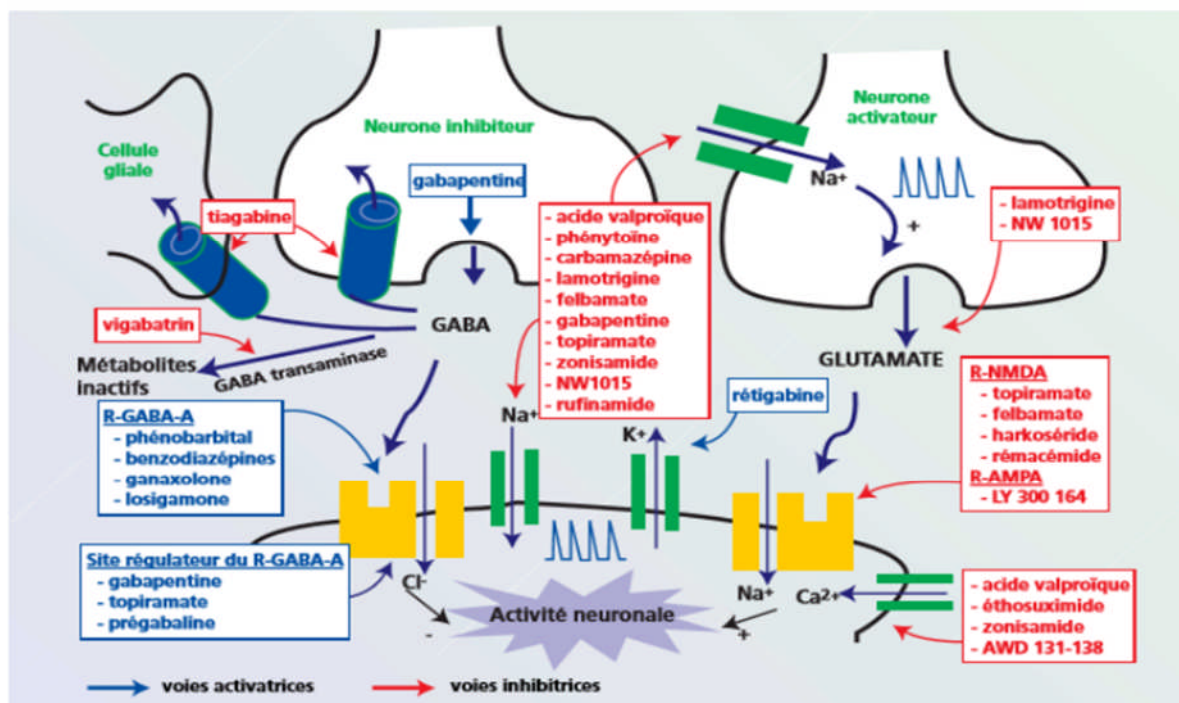


Figure 2 : Cible d'action moléculaire des différentes générations d'antiépileptiques sur la voie inhibitrice GABA-ergique et la voie activatrice glutamatergique

1. Généralités

Pendant la première moitié du XXème siècle, les principaux médicaments utilisés pour le traitement de l'épilepsie étaient le phénobarbital (1912) et la phénytoïne (1938) [7].

La phénytoïne appartient à la classe des hydantoïnes qui constituent le 2ème groupe des uréides à chaîne fermée[8].

Les hydantoïnes ne possèdent pas de substituant en position « 5 » sont dépourvus d'activité thérapeutique (Figure 3)

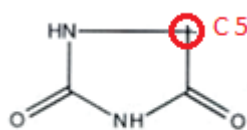


Figure 3 : Structure chimique des hydantoïnes

L'hydantoïne est un produit qui peut être isolé des mélasses des sucreries. Théoriquement, les hydantoïnes sont obtenus par condensation de l'urée avec l'acide glycolique (figure4).

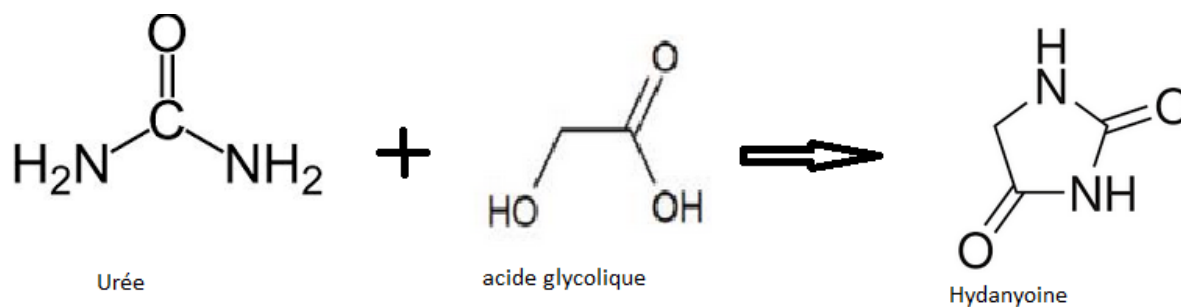


Figure 4 : Condensation de l'urée avec l'acide glycolique

La phénytoïne ou diphénylhydantoïne (Di-Hydan®) est un antiépileptique utilisé pour toutes les crises tonico-cloniques généralisées et partielles, mais n'est pas utilisé dans les absences et les crises myocloniques. Elle a également un effet antalgique dans les névralgies faciales et un effet anti arythmique[9].

2. Propriétés physico-chimiques de la phénytoïne

• 2.1. Structure chimique

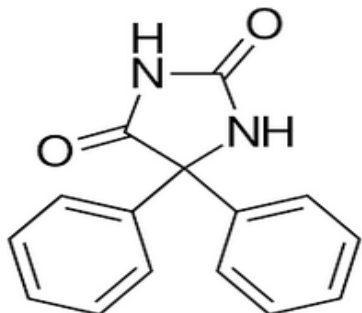


Figure 5 : Structure chimique de la phénytoïne

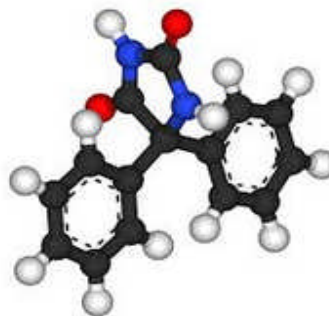


Figure 6 : Vue tridimensionnelle de La phénytoïne

Nomenclature : 5,5-Diphénylimidazolidine-2,4-dione

Formule brute : $C_{15}H_{12}N_2O_2$

Teneur : 99,0 % à 101,0 % (substance desséchée).

• 2.2. Caractéristiques physico-chimiques

Aspect : poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche.

Solubilité : pratiquement insoluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol à 96 %, très peu soluble dans le chlorure de méthylène. La phénytoïne se dissout dans les solutions diluées d'hydroxydes alcalins

pKa = 8.3

Log P (mesuré) = 2.26-2.08

UV (λ_{max}, nm) = / 258(milieu neutre) / / 235(milieu alcalin) /

2.3. Mécanisme d'action

La phénytoïne diminue l'automatisme sans altérer la vitesse de conduction. Elle raccourcit les périodes réfractaires.

Les effets antiépileptiques de la phénytoïne sont probablement dus aux mécanismes cellulaires suivants : modulation des canaux sodiques voltage-dépendants des neurones, inhibition du flux de calcium à travers les membranes des neurones, modulation des canaux calciques voltage-dépendants des neurones et stimulation de l'activité sodium-potassium ATPase des neurones et cellules gliales[9].

La modulation des canaux sodiques est probablement le principal mécanisme de l'activité antiépileptique (figure7) car il est partagé par plusieurs antiépileptiques autres que la phénytoïne.

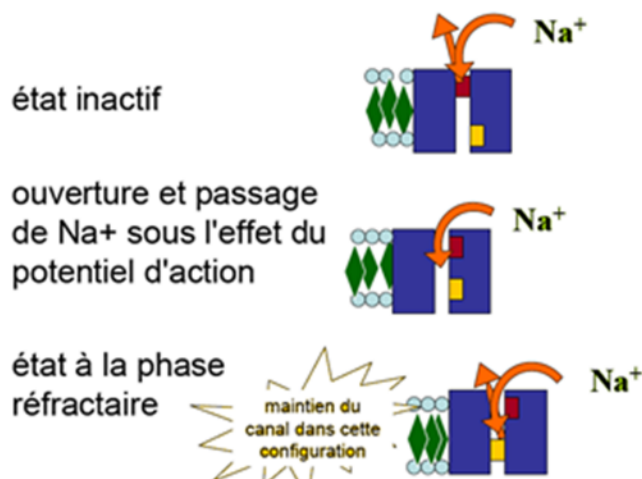


Figure 7 : Mécanisme de l'activité antiépileptique par modulation des canaux sodiques

2.4. Propriétés pharmacocinétique

Les concentrations plasmatiques efficaces de la phénytoïne sont généralement comprises entre 5 et 12 mg/l chez l'adulte et 10 à 20 mg/l chez l'enfant.

• 2.4.1. Absorption

L'absorption de la phénytoïne est lente mais pratiquement complète au niveau gastro-intestinal. La molécule est insoluble au pH acide de l'estomac et elle a un effet irritant donc elle doit être prise pendant ou juste après le repas, La prise de phénytoïne doit être standardisée pour chaque patient afin d'éviter les variations possibles d'absorption [10,11].

• 2.4.2. Distribution

La phénytoïne se fixe aux protéines plasmatiques (à peu près 90%). Ce taux peut être inférieur chez certains patients ou en cas de certaines pathologies. Il existe aussi des variations inter individuelles, ce qui justifie de mettre en place un suivi des concentrations plasmatiques pour permettre une meilleure prise en charge de l'épilepsie[10,11].

• 2.4.3. Métabolisme

La phénytoïne est métabolisée au niveau du foie en métabolite inactif. Le taux de métabolisation est sujet à un polymorphisme génétique et peut également être influencé par l'ethnie du patient, l'état physiologique comme la grossesse (où le métabolisme est augmenté) ou alors l'âge (où le métabolisme est diminué). L'hydroxylation de la phénytoïne est saturable et justifie une augmentation

progressive de posologie pour éviter de larges variations au niveau de la concentration plasmatique.

Par ailleurs, la phénytoïne subit un cycle entéro-hépatique. Elle est sensible aux inducteurs et inhibiteurs enzymatiques et inhibe également son propre métabolisme. C'est pourquoi il faut souvent plusieurs semaines avant d'obtenir une concentration plasmatique thérapeutique constante de la phénytoïne[10,11].

- **2.4.4.Elimination**

L'élimination se fait par les urines sous forme principalement hydroxylée. La demi-vie d'élimination est comprise entre 10 et 24 heures mais peut aller jusqu'à 48 heures [10,11].

2.5. Toxicité

La phénytoïne est un antiépileptique difficile à manier, car le rapport entre la dose administrée et la concentration sanguine obtenue est variable, parfois même imprévisible les posologies de phénytoïne devront être ajustées. Ainsi le maintien d'une concentration sanguine constante en phénytoïne n'est pas facile. Les enzymes hépatiques qui métabolisent la phénytoïne le font à des vitesses extrêmement variables, selon l'âge de sujet (les enfants métabolisent plus vite, les sujets âgés plus lentement), et également selon l'état du foie, à noter Le métabolisme de la phénytoïne est fortement influencé par les enzymes de cytochrome p450. Ces enzymes peuvent être affectées par l'administration concomitante qui peut induire ou inhiber en provoquant des changements qui en résultent dans les niveaux de phénytoïne [11].

Si les niveaux de la phénytoïne s'élèvent au-dessus des niveaux thérapeutiques, les symptômes de la toxicité de la phénytoïne peuvent inclure les confusions troubles de vision et de l'élocution[11].

La demi-vie minimale en cas de surdosage semble être de 7h et peut être prolongée jusqu'à 60h.

PARTIE
EXPERIMENTALE

1) Matériel et méthodes

1.1. Obtention de la phénytoïne par synthèse chimique

La synthèse chimique reste la voie la plus importante pour accéder aux différentes molécules à effets thérapeutiques. Environ 95% des molécules de la pharmacopée sont obtenues par synthèse chimique avec près de 40% des produits préparés par synthèse totale. En ce qui concerne la phénytoïne, elle est obtenue principalement par synthèse chimique totale.

Dans la bibliographie, on retrouve différents procédés qui ont été proposés pour la synthèse de la phénytoïne. Des procédés qui se font en une seule étape à partir de la benzophénone, par traitement au moyen de cyanure de potassium en présence de carbonate d'ammonium [12].

Une deuxième voie de synthèse met en jeu la condensation de deux molécules de benzaldéhyde sous l'action d'hydroxyde de sodium, en milieu éthanolique, pour donner la benzoïne. L'oxydation en benzile fait appel à plusieurs méthodes. L'action de l'hydroxyde de potassium dans l'éthanol provoque la transposition du benzile en acide benzylique qui se condense avec l'urée pour former la phénytoïne [12].

A l'échelle industrielle, on l'a synthétisé plutôt par condensation de l'urée avec l'acide diphenylglycolique [13]. Dans notre étude, nous avons fait réagir le benzile avec l'urée, selon le schéma de synthèse ci-dessous (figure 8).

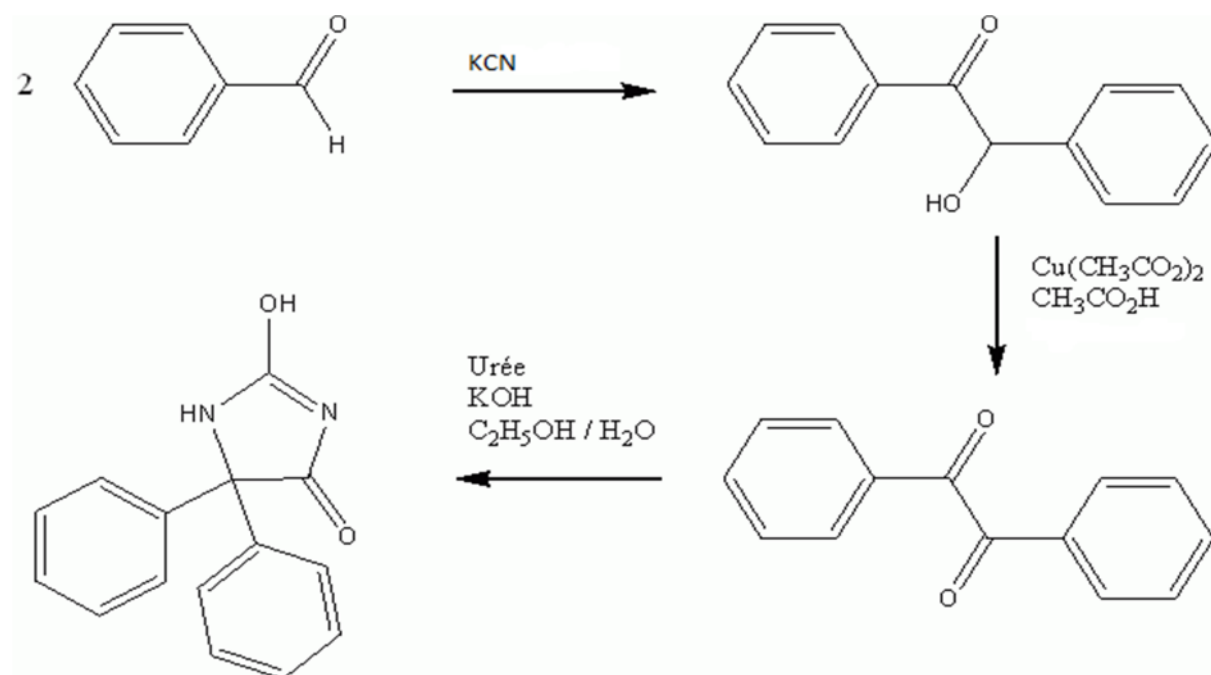


Figure 8: Schéma de synthés

La synthèse a été réalisée en utilisant un chauffage à reflux et le produit obtenu a été purifié par recristallisation.

1.1.1 Réactifs et matériel utilisés

Tableaux V: Réactifs et matériel utilisés pour la synthèse

Matériel utilisé	Réactifs utilisés
- Ballon à fond plat de 250 ml - Ballon à fond plat à col rodé à 250ml - Becher de 400 ml - Becher de 250 ml - Réfrigèrent à serpentín - Plaque chauffante - Barreau aimanté - Balance (précession 0.01 g) - Spatules - Eprouvettes de 05, 10,20 ml - Cristallisoír (ou autre récipient pour le bain eau /glace) - Appareil pour filtration sous vide - Papier filtre	- Eau distillée Poids molaire =18 g/mol - Benzaldéhyde C_7H_6 Poids molaire 106,12 g/mol Densité 1,04 Point d'ébullition 178,1c ° - Cyanure de potassium KCN Poids molaire 65,12 g/mol Densité 1,52 Point d'ébullition 1625c ° - Benzoïne $C_{14}H_{12}O_2$ Poids moléculaire = 18g/mol Point d'ébullition : 344c° - Acétate de cuivre $C(CH_3COO)_2$ poids moléculaire =181,63g/mol Point d'ébullition : 240c° - Acide acétique glaciale $C_2H_4O_2$ poids moléculaire =60,05g/mol Point d'ébullition : 118c° - Ethanol poids moléculaire = 46,06g/mol Point d'ébullition : 78,37 c° - Benzile $C_{14}H_{10}O_2$

	poids molaire : 210,22g/mol Densité : 1,23 Point d'ébullition : 346 à 348 c°
	- Urée $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ poids molaire : 60,06g/mol Densité : 1,32
	- Hydroxyde de potassium KOH poids molaire : 56,10g/mol
	- Acide chlorhydrique HCl poids molaire : 36,46 g/mol

Note sur les réactifs

Le benzaldéhyde s'oxyde facilement à l'air en acide benzoïque que l'on retrouve sous forme de cristaux blanc sur le haut des vieilles bouteilles. Cet acide peut modifier le pH du milieu réactionnel et donc entraîner une baisse importante du rendement.

Il sera donc préférable d'utiliser une bouteille fraîchement ouverte ou bien de distiller le benzaldéhyde avant son utilisation [14,15].

1.1.2. Synthèse de la benzoïne

La benzoïne est obtenue par la condensation de deux molécules de benzaldéhyde sur elles-mêmes [14,15].

Cette réaction peut être réalisée en présence d'un catalyseur : l'ion cyanure CN^- . Le cyanure possède trois fonctions intéressantes mises à profit dans cette réaction (figure15) :

- c'est un nucléophile ;
- il augmente l'acidité du proton placé en α ;
- c'est un groupe partant.

Cependant, l'utilisation du cyanure présente un inconvénient non négligeable : sa toxicité. En effet, le cyanure de potassium est un poison particulièrement violent. Quand au cyanure d'hydrogène (HCN – gazeux), la mort peut survenir après une exposition de quelques minutes à une concentration de 300 ppm.

1.1.2.1. Mode opératoire

- Etape 1 : Obtention de la benzoïne

- Dans un ballon de 250 ml, introduire successivement, 5g d'aldéhyde benzoïque, 12,5 ml d'éthanol et 0,75 g de KCN ;
- Adapte un réfrigèrent à reflux ;
- Porter à ébullition pendant 45 minutes

- Etapes 2 : Cristallisation de la benzoïne

- Laisser refroidir le mélange réactionnel, la benzoïne se cristallise rapidement à l'air libre.
- Filtrer et essorer sur Büchner

- Etape 3 : Purification de la benzoïne par recristallisation

- Dans un bécher contenant le solide à purifier, introduire au maximum 50 ml d'éthanol, le mélange est placé sur une plaque chauffante avec agitation magnétique jusqu'à dissolution complète.
- Laisser refroidir le mélange jusqu'à la recristallisation complète de la benzoïne ;
- Filtrer sous vide, récupérer les cristaux obtenus sur papier filtre préalablement pesés et laisser sécher à l'air libre.

1.1.3. Oxydation de la benzoïne en benzile

Les réactions d'oxydation en chimie organique sont classées selon cinq catégories :

- Les réactions faisant intervenir le départ d'atomes d'hydrogène.
- Les réactions impliquant la rupture d'une liaison C-C.
- Les réactions impliquant le remplacement d'atomes d'hydrogène par un atome d'oxygène.
- Les réactions dans lesquelles un atome d'oxygène est ajouté au substrat.
- Les réactions de couplage oxydant.

Dans notre cas, il s'agit de réactions faisant intervenir le départ d'atomes d'hydrogène. Ce type d'oxydation permet d'oxyder les alcools primaires en aldéhydes avec risque parfois de suroxydation, c'est-à-dire le risque d'avoir la formation d'acide carboxylique.

Les alcools secondaires sont, quant à eux, oxydés en cétones. Comme dans le cas d'oxydation de la benzoïne en benzile.

Cette oxydation peut être réalisée par activation thermique en utilisant l'acide nitrique ou bien acétate de cuivre comme agent oxydant. Ou bien, par activation au micro-onde en utilisant l'acétate de cuivre comme agent oxydant [13,16,17].

1.1.3.1. Mode Opératoire

Etape 1 : formation du benzile

- Dans un ballon de 250ml introduire 2,00 g de benzoïne, 3,80g d'acétate de cuivre monohydrate, 15 ml d'acide acétique glaciale et 5ml d'eau ;
- Porter à reflux, 75 °c pendant 60 min ;
- Filtrer le mélange sur Buchner.

Etape 2 : Cristallisation du benzile

- Transvaser le filtrat dans un bécher de 250 ml, rincer la fiole avec de l'eau distillée glacée et refroidir le bécher de façon à ce que la cristallisation soit complète ;
- Mesurer le pH du filtrat avant le premier lavage ;
- Filtrer sur Büchner, laver le gâteau avec de l'eau distillée glacée en contrôlant la qualité des lavages (de nombreux lavages sont nécessaires)

Etape 3 : Purification du benzile par recristallisation

- Recristalliser le benzile à l'aide de l'alcool absolu à chaud ;
- Filtrer et récupérer le produit ;
- Sécher à l'étuve à 75 °c.

1.1.4. Synthèse de la phénytoïne

La phénytoïne est obtenue par condensation d'une molécule de benzile et d'une molécule d'urée en présence d'éthanol et d'hydroxyde de potassium.[13,14,17].

1.1.4.1 Préparation des différentes solutions

a) Préparation de la solution d'hydroxyde de potassium (KOH):

La formule utilisée pour le calcul est la suivante :

$$m=C \times M \times V$$

- m : masse de l'hydroxyde de potassium (KOH)
- C : concentration d'hydroxyde de potassium (KOH)
- M : masse molaire de l'hydroxyde de potassium (KOH)
- V : Volume de la solution préparée

$$m = 10 \text{ mol} / 1,56 \text{ g/mol} \cdot 1 \text{ L} = 560 \text{ g}$$

$$m = 560 \text{ g}$$

560 g d'hydroxyde de potassium $\longrightarrow$ dans un litre d'eau distillée

X g d'hydroxyde de potassium $\longrightarrow$ dans une fiole de 100 ml d'eau

$$X = 56 \text{ g}$$

Placer 56 g de KOH dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.

b) Préparation de la solution d'acide chlorhydrique HCl à 6 mol/l :

La formule utilisée pour le calcul est la suivante :

$$m = C \times M \times V \times 100/P$$

m : masse d'acide chlorhydrique (HCl)

C : concentration d'acide chlorhydrique (HCl)

V : volume de la solution préparée

P : pureté de la solution de d'acide chlorhydrique (HCl)

$$m = 6 \text{ (mol/L)} \times 36,5 \text{ (g/mol)} \times 0,1 \text{ (L)} \times 100/37 \text{ (g)} = 59,19 \text{ g}$$

$$m = 59,19 \text{ g}$$

Volume de l'acide chlorhydrique :

$$V = m/d$$

Sachant que la densité de l'HCl est de 1,18 :

$$V = 59,19/1,18 = 50,16 \text{ ml}$$

$$V = 50,16 \text{ ml}$$

Placer 50,16 ml de HCl dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée

1.1.4.2. Mode opératoire

Etape 1 : Obtention de la phénytoïne

- Dans un ballon de 250 ml, faire dissoudre 2,00 g de benzile, 0,96 g d'urée, 50 ml d'éthanol ;
- Ajouter 5 ml d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium à 10 mol/l ;
- Porter le mélange à reflux pendant 2h, après refroidissement à température ambiante, ajouter 150 ml d'eau glacée en agitant ;
- Filtrer le mélange pour enlever le solide piège pale issu d'une réaction secondaire et transvaser le filtrat dans un bécher de 400 ml ;
- Ajouter au filtrat, goutte à goutte et en agitant, de l'acide chlorhydrique à 6 mol/l jusqu'à l'obtention d'un Ph = (4 _5) ;
- Filtrer et laver le produit avec de l'eau distillée glacée
- Sécher à l'étuve à 75 °c

Etape 2 : Purification de la phénytoïne par recristallisation

- Recristalliser le produit obtenu dans l'éthanol à 95% ;
- Filtrer et essorer sur Büchner.

1.1.5. Calcul du rendement des réactions

La formule de calcul du rendement :

$$R = (\text{masse expérimentale} / \text{masse théorique}) \times 100\%$$

1.2. Evaluation de la qualité de la substance active synthétisée

1.2.1. Caractères organoleptiques

Cette étape est basée sur une simple observation visuelle des cristaux après purification du produit pour confirmer l'aspect et la couleur.

1.2.2. Détermination du point de fusion

Appareil utilisé

L'appareil utilisé pour déterminer le point de fusion de la substance synthétisée est de type METTER TOLEDO.FP62

Mode opératoire

Préchauffer l'appareil, remplir le tube capillaire et noter la température de fusion.

1.2.3. Solubilité

Principe

La solubilité est la capacité d'une substance, appelée soluté, à se dissoudre dans une autre substance appelés solvant

Tableaux VI : Echelle exprimant la solubilité d'une substance

	Volumes approximatifs de solvant en ml/g de substance
Très soluble	Inférieure 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
Tres peu soluble	De 1000 à 10000
Pratiquement soluble	Plus de 10000

Mode opératoire

Préparer une série des tubes à essai contenant chacun une masse de la substance à examiner qui correspond au terme descriptif par rapport au solvant.

Vérifier la solubilité de la phénytoïne dans l'eau, l'éthanol et une solution diluée de NaOH.

1.2.4. Observation des cristaux de la phénytoïne par microscope électronique à balayage (M.E.B)

Appareil utilisé

Pour caractériser les cristaux de la phénytoïne obtenus, on a utilisé un microscope électronique à balayage de type Phillips XL30.

1.2.5. Identification de la phénytoïne

1.2.5.1. Caractérisation de la phénytoïne par des réactions colorimétriques

a. Réaction avec le sulfate de cuivre

Réactifs utilisés

- phénytoïne
- Eau distillée
- Ammoniaque NH_4OHpoids molaire : 35,05 g/mol
- Sulfate de cuivre CuSO_4poids molaire : 159,60 g/mol

Mode opératoire :

- Dans un tube à essai, introduire successivement, environ 10 mg de phénytoïne, 1 ml d'eau, 0,05 ml d'ammoniaque, 0,05 ml d'une solution de sulfate de cuivre à 50 g/l ;
- Chauffer jusqu'à ébullition ;
- Agiter et noter l'observation.

b. Réaction de parri

C'est une réaction caractéristique de la séquence CO--HN--CO , elle n'a lieu en milieu alcoolique strictement anhydre et nécessite comme réactif le nitrate de cobalt et la vapeur d'ammoniaque.

Réactifs utilisées

- Phénytoïne
- Alcool à 90 °
- Ammoniaque NH_4OHpoids molaire : 30,05 g/mol
- Nitrate de cobalt $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$poids molaire : 182,943 g/mol

Mode opératoire

- Faire dissoudre 20mg de la phénytoïne dans 5 ml d'alcool à 96°, ajouter 4 gouttes d'une solution de nitrate de cobalt.
- D'autre part, remplir d'ammoniaque une pipette jaugée de 5 ml, puis la vider complètement en la secourant. Eviter autant que possible qu'il reste n serait ce qu'une seule goutte d'ammoniaque ;
- Amener la pointe de la pipette en contact avec la surface de la solution alcoolique et souffler légèrement dans la pipette ;

- Noter l'observation ;
- Ajouter une goutte d'ammoniaque liquide ;
- Noter l'observation.

1.2.5.2. Caractérisation de la phénytoïne par des méthodes spectroscopiques

a. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge est l'une des méthodes spectroscopiques les plus utilisées pour la caractérisation des molécules organiques. Le succès de cette technique repose sur la rapidité de caractérisation et la sensibilité des molécules existantes qui est due aux niveaux d'énergies sollicités par cette technique. Il s'agit des énergies de vibration des liaisons moléculaires (vibrations de valence ou d'élongation et vibrations de déformation angulaire). La région du spectre IR s'étend de 0,75 à 300 μm , mais la majorité des applications se situe entre 2,5 et 15 μm soit en nombre d'onde de 4000 cm^{-1} à 670 cm^{-1} ce qui correspond à des énergies plus faibles variant de 2 kJ.mol^{-1} à 40 kJ.mol^{-1} [18].

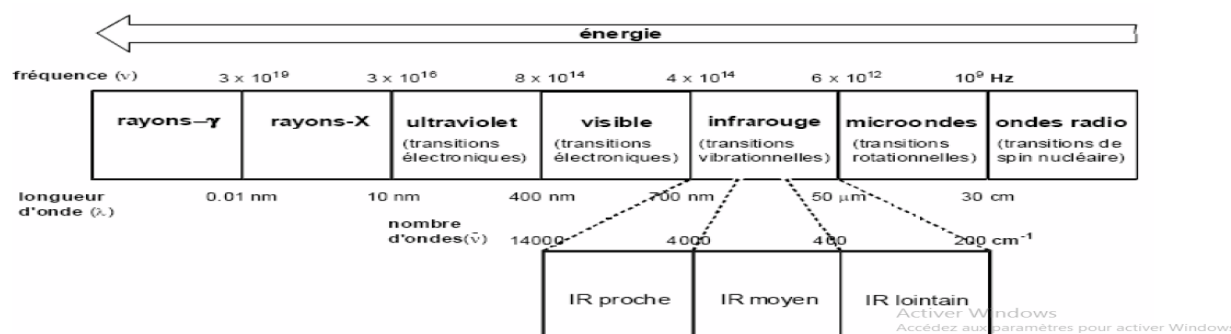


Figure 9 : le spectre électromagnétique

Appareil utilisé

Pour l'identification de notre matière première nous avons utilisé un spectrophotomètre infrarouge BRUKERTENSOR 27.

Technique proprement dite

Pour préparer la pastille, mélanger 0,5 à 2 mg de la phénytoïne synthétisée avec 100 mg de KBr dans un mortier, bien mélanger jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine, Mettre le mélange dans un moule et exercer, une pression de 8 tonnes à l'aide d'une pastilleuse pendant 2 à 5 minutes.

b. Spectroscopie d'absorption dans l'ultra-violet (UV)

La spectroscopie UV-visible est basée sur l'absorption d'une énergie élevée ($\lambda = 200 - 800$ nm) permettant aux électrons de valence des atomes et des molécules de passer d'un état fondamental à un état excité (transitions électroniques).

Le domaine du visible et de l'UV est pauvre en information structurale. Son emploi est de plus en plus réservé à l'analyse quantitative via la loi de Beer-Lambert, Mais il est indispensable pour une approche expérimentale de la nature de la liaison [18].

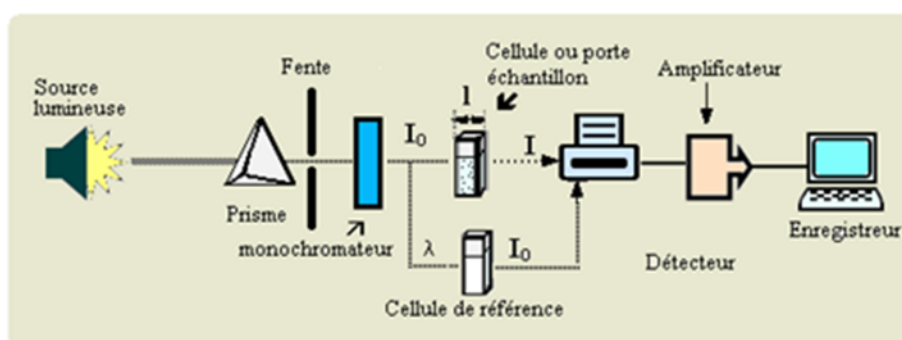


Figure 10 : Schéma du principe de l'appareil UV

Appareil utilisé

Pour identifier notre matière première nous avons utilisé un spectrophotomètre UV/visible SHIMADZU (UV-1601pc).

Technique proprement dite

- Préparer une solution de la phénytoïne à 0.001mol/l dans une solution de NaOH 0.001mol.
- Faire la lecture entre 200 et 400 nm.

1.2.6. Evaluation du degré de coloration de la solution de phénytoïne

1.2.6.1.Réactifs utilisés

- Chlorure ferrique FeCl_3poids molaire : 162,2mol/l
- Acide chlorhydrique HCl
- Chlorure de cobalt CoCl_2poids molaire : 129,8mo/l
- Sulfate de cuivre CuSO_4poids molaire : 159,60mol/l
- Hydroxyde de sodium NaOHpoids molaire : 39,997 mol/l

1.2.6.2.Préparation des solutions

a. Solutions primaires

Solution jaune

- Faire dissoudre 46 g de chlorure ferrique dans environ 900 ml d'une solution de 25 ml d'acide chlorhydrique et de 975ml d'eau
- Compléter à 1000ml avec la solution chlorhydrique
- Ajuster la solution à 45 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ml, par addition de la solution chlorhydrique.

Solution rouge

- Faire dissoudre 60 g de chlorure de cobalt dans environ 900 ml d'une solution de 25 ml d'acide chlorhydrique et de 975 ml d'eau.
- Compléter à 1000 ml avec la solution chlorhydrique.
- Ajuster la solution à 593 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ par ml, par addition de la solution chlorhydrique.

Solution bleu

- Faire dissoudre 63 g de sulfate de cuivre dans environ 900 ml d'une solution de 25 ml d'acide chlorhydrique et de 975 ml d'eau.
- Compléter à 1000 ml avec la solution chlorhydrique.
- Ajuster la solution à 62,4 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ par ml, par addition de la solution chlorhydrique.

b. Solutions étalons

A partir des trois solutions primaires, nous avons procédé à la préparation de ces 5 solutions étalons comme le démontre le tableau VII.

Tableau VII : Les différentes solutions étalons pour le degré de coloration

Désignation de la solution étalon	Solution jaune ml	Solution rouge ml	Solution bleu ml	Solution Chlorhydrique à 1 pour cent p/v en HCl
B (brun)	3	3	2.4	1.6
JB(jaune brunâtre)	2.4	1	0.4	6.2
J (jaune)	2.4	0.6	0	7
JV (jaune verdâtre)	9.6	0.2	0.2	0
R (rouge)	1	2	0	7

c. Solutions témoins

Partant des solutions étalons, nous avons préparé les solutions témoins résumées dans le tableau suivant :

Tableaux VIII : les différentes solutions pour le degré de coloration

Solutions témoin B		
Solution témoin	Solution étalon b ml	Solution chlorhydrique à 1/ p/v en HCl ml
B1	1.50	0.50
B2	1.00	1.00
B3	0.75	1.25
B4	0.50	1..50
B5	0.25	1.75
B6	0.10	1.90

Solution témoin JB		
Solution témoin	Solution étalon JB ml	Solution chlorhydrique à 1/ p/v en HCl ml
JB1	2.00	0.00
JB2	1.500	0.50
JB3	0.5	1.00
JB4	0.25	1.50
JB5	0.25	1.75
JB6	0.10	1.90
Solution témoin j		
Solution témoin	Solution étalon J ml	Solution chlorhydrique à 1/ p/v en HCl ml
J1	2.00	0.00
J2	1.50	0.50
J3	1.00	1.00
J4	0.50	1.50
J5	0.25	1.75
J6	0.10	1.90
Solution témoin JV		
Solution témoin	Solution étalon JV ml	Solution chlorhydrique à 1/ p/v en HCl ml
JV1	0.50	1.50
JV2	0.30	1.70
JV3	0.17	1.83
JV4	0.10	1.90
JV5	0.06	1.94
JV6	0.03	1.97
Solution témoin R		
Solution témoin	Solution étalon R	Solution chlorhydrique à 1/ p/v en HCl ml
R1	2.00	0.00
R2	1.50	0.50
R3	1.00	1.00
R4	0.75	1.25
R5	0.50	1.50
R6	0.25	1.75

d. Solution à examiner

Mode opératoire

- Dans un bécher, introduire ,5 ml d'hydroxyde de sodium 1M, 20 ml d'eau ;
- Agiter jusqu'à dissolution complète.

Technique proprement dite

Pour apprécier le degré de coloration de la solution de phénytoïne dans les teintes jaune, rouge et brune, nous avons utilisé le procédé II ci-dessous précisé dans la pharmacopée européenne[19].

Procède II

Dans des tubes à assai identiques en verre neutre, incolores transparents, d'un diamètre intérieure de 16 mm à fond plat :

- Comparer 10 ml du liquide à examiner à 10 ml d'eau ou de solutions témoins prescrites si dessous.
- Examiner la colonne de liquide dans l'axe du tube sur fond blanc.
- Apprécier les nuances à la lumière diffuse de jour.

1.2.7. Etude de la limpidité de la solution de phénytoïne

Pour confirmer la limpidité de la solution, nous nous sommes basés sur le test de la pharmacopée européenne.

1.2.7.1. Réactifs utilisés

a. Solution de chlorure de sodium 0,2M

- Dissoudre 11 ,7 g de chlorure de sodium dans l'eau.
- Compléter à 1000ml avec le même solvant.

Dilution I de chlorure

- Prélever 1.0 ml de solution de chlorure de sodium 0.2 M.
- Compléter à 100 ml avec de l'eau (71mg de Cl par litre).

Dilution II de chlorure

- Prélever 20 ml de dilution de chlorure.
- Compléter à 100 ml avec de l'eau (14.2mg de Cl par litre).

Dilution III de chlorure

- Prélever 1.0 ml de dilution I de chlorure.
- Compléter à 100 ml avec de l'eau (0.71 mg de Cl par litre).

1.2.7.2. Mode opératoire

Pour examiner la limpidité de la solution de phénytoïne synthétisée, nous avons utilisé le procédé suivant :

- Dans des tubes à essai, en verre neutre,
- Comparer 10 ml du liquide à examiner avec 10 ml de solution témoin préparée extemporanément et décrite dans le tableau XI.

Solutions témoins

- Préparer les solutions témoins d'après le tableau ci-dessous en évitant d'agiter.

Examiner 5 minutes après la préparation de la solution témoin, les solutions par réflexion dans l'axe du tube sur fond noir. (Apprécier les nuances à la lumière diffuse du jour)

Tableau IX : solutions témoins pour le teste de limpidité

	A1	B1	A2	B2	A3	B3	A4	B4
	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)
Dilution III de chlorure	0.05	0.25	0.75	3.75				
Dilution II de chlorure					0.15	0.75	0.25	1.25
Acide nitrique dilué	1.00	5.00	1.00	5.00	1.00	5.00	1.00	5.00
Eau	0.75	3.75	0.05	0.25	0.65	3.25	0.55	2.75
Solution de nitrate d'argent	0.2	1.0	0.2	1.0	0.2	1.0	0.2	1.0

Un liquide est limpide si sa limpidité correspond à celle de l'eau ou du solvant utilisé dans les conditions opératoires ci-dessus.

1.2.8. Perte à la dessiccation**Technique proprement dit**

Dans l'étuve à 105 °C, mettre 1g de la phénytoïne synthétisée pendant une heure

- Refaire la pesée.

1.2.9. Recherche des impuretés par des technique chromatographiques

1.2.9.1 Recherche des impuretés par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode de séparation des constituants d'un mélange même très complexe.

Il existe trois principaux types de chromatographie :

- La chromatographie en phase gazeuse (CPG)
- La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)
- La chromatographie sur couche mince (CCM)

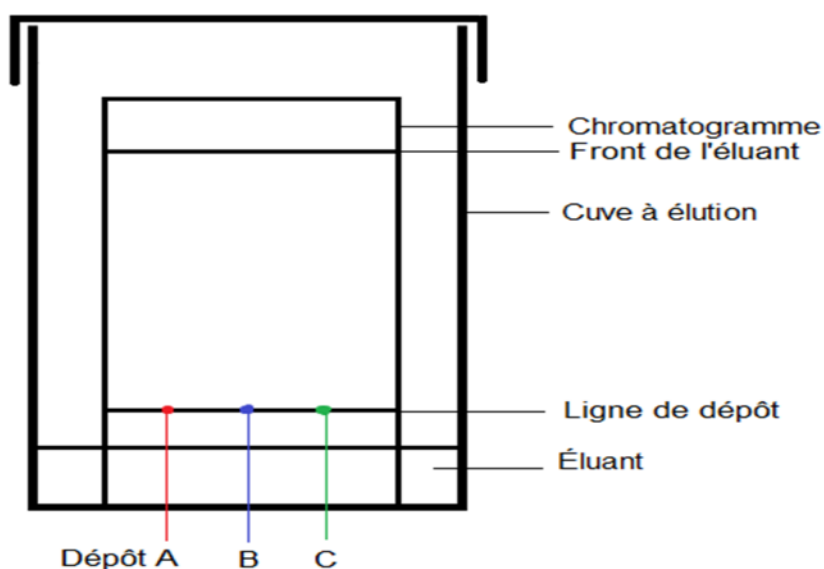


Figure 11 : schéma de la CCM

Solvants utilisés

- Hexane
- Acétone
- Méthanol
- Dioxane
- Benzile

a. Mode opératoire

Préparation de la phase mobile

- La cuve à élution est préparée environ une demi-heure avant utilisation, en introduisant 30 volumes de dioxane et 70 volumes d'hexane.

Préparation des solutions

Solution à examiner (a)

- Faire dissoudre 0,40g de la phénytoïne dans un mélange à volume égal d'acétone et de méthanol ;
- Compléter à 10 ml avec le même mélange de solvants.

Solution à examiner (b)

- Prélever 1 ml de solution (a) ;
- compléter à 20 ml avec un mélange à volumes égaux d'acétone et de méthanol.

Solution à examiner (c)

- faire dissoudre 8 mg de benzile dans un mélange à volume égal d'acétone et de méthanol
- compléter à 100 ml avec le même mélange de solvant.

Solution à examiner (d)

- Prélever 1 ml de solution à examiner (a)
- compléter à 100 ml avec le mélange à volume égal d'acétone et de méthanol.

Solution témoin (e)

- Mélanger 1 ml de solution témoin (b) et 1 ml de solution témoin (c).

1.2.10. Détermination d'une limite de basicité ou d'acidité

En présence d'un indicateur au rouge de méthyle pour la titration par une solution d'acide chlorhydrique, ou de bleu de bromothymol pour la titration par une solution d'hydroxyde de sodium

**RESULTATS
ET
DISCUSSIONS**

2. Résultats et Discussion

2.1. Explication du mécanisme réactionnel

2.1.1. Mécanisme réactionnel de synthèse de la benzoïne

Donne cette prêtée la synthèse de la benzoïne se fait au moyen d'HCN se qui et trop dangereux vue sa toxicité, il existe un autre moyen de condensé les deux molécules de bezaldéhyde en présence de la vitamine B1, mais on aura une grande diminution de rendement.

La solution apportée dans cette étape été de mettre KCN en solutions pour former l'ion CN^-

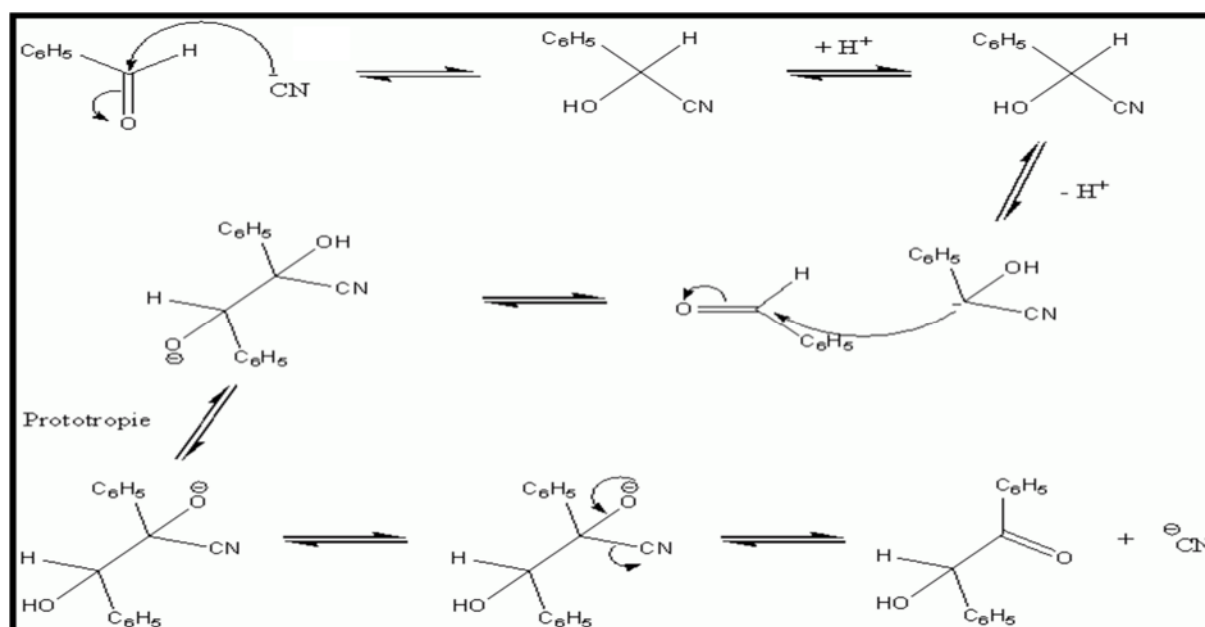


Figure 12 : Mécanisme de réaction de synthèse de la benzoïne

2.1.2. Mécanisme réactionnel d'oxydation de la benzoïne en benzile

L'équation de la réaction est :

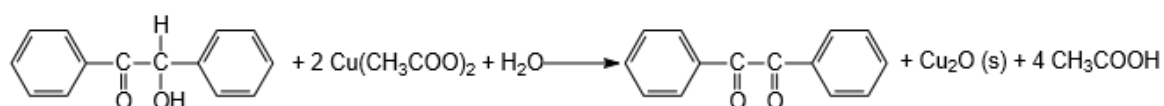


Figure 13 : Equation de réaction oxydation de la benzoïne en benzile

Mécanisme réactionnel mettant en œuvre l'oxydation :

Le mécanisme de cette synthèse n'a pas été trouvé dans la littérature, il a été proposé par nous-même. Le mécanisme serait le suivant:

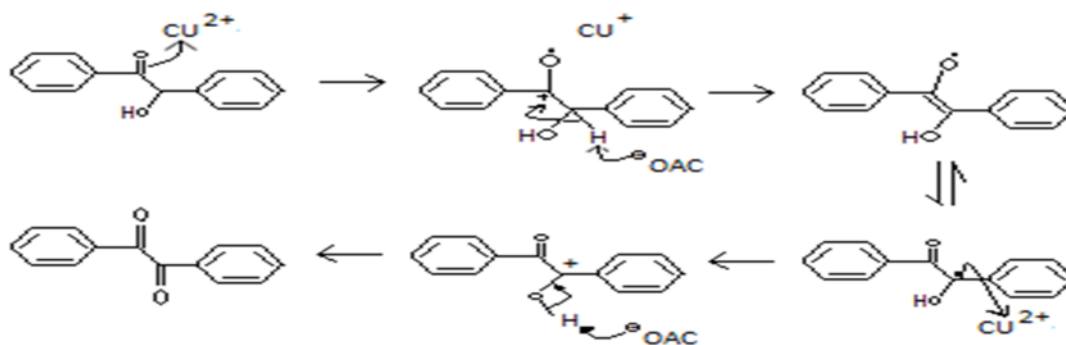
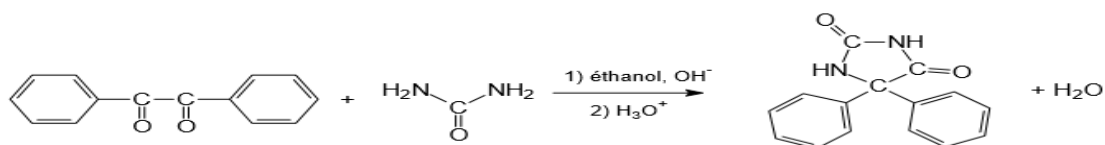


Figure 14: Mécanisme réactionnel d'Oxydation de la benzoïne en benzile

La solution initialement bleu-verdâtre donne le benzile de coloration jaune et l'oxyde de cuivre rouge brique Cu_2O .

2.1.3. Mécanisme réactionnel de synthèse de la phénytoïne

L'équation de la réaction est :



Mécanisme réactionnel proposé :

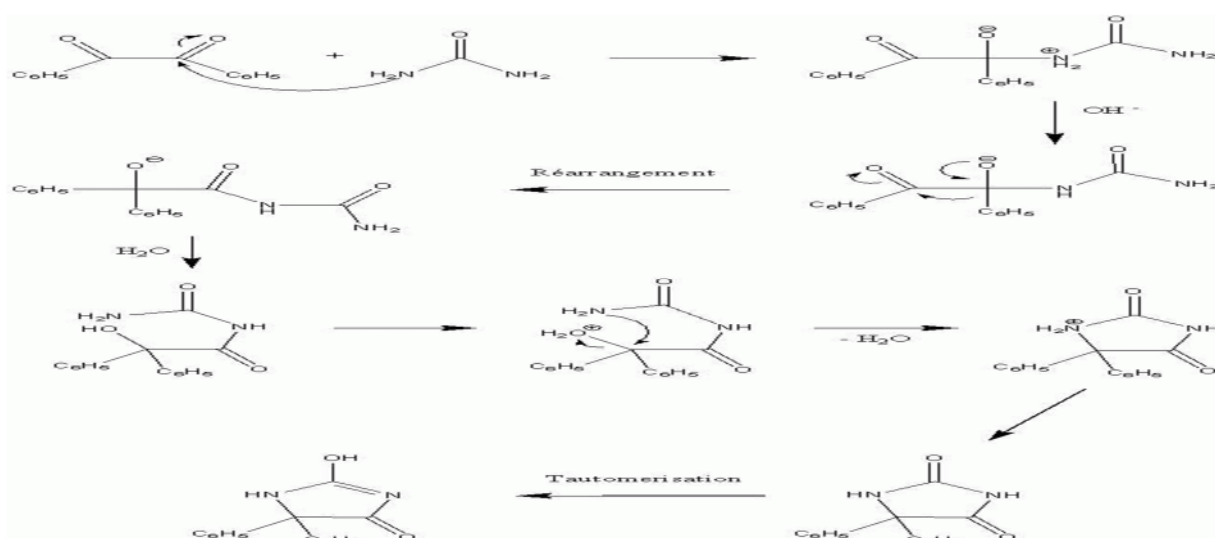


Figure 15 : Mécanisme réactionnel de Synthèse de la phénytoïne

Cette molécule est en équilibre avec sa forme tautomère

2.2. Calcul du rendement

2.2.1. Synthèse de la benzoïne

La benzoïne est obtenue par la condensation de deux molécules de benzaldéhyde qui est le réactif limitant.

$$R = (\text{masse expérimentale} / \text{masse théorique}) \cdot 100$$

$$R = (3.46 / 5) \times 100\% = 69,2\%$$

$$R = 69,2\%$$

2.2.2. Synthèse du benzile

Dans la littérature le rendement de cette réaction est de 70%, nous avons pu augmenter ce dernier à 77.27%.soit de 7.27% en modifiant les conditions opératoires. Évidemment le sous-produit de cette synthèse est l'oxyde de cuivre, ce dernier peut être formé après calcination ou bien dans un solvant approprié ou l'augmentation de la température le favorise.

Donc les modifications apportées et de diminuer la température jusqu'au début d'ébullition et augmenter le temps de chauffage de 45min à 1h

2.2.3. Synthèse de la phénytoïne

Le benzile est le réactif limitant

$$R = (\text{masse expérimentale} / \text{masse théorique}) \times 100$$

$$R = (1,64/2,39) \times 100\% = 68,61\%$$

2.3. Evaluation de la qualité de la substance active synthétisée

2.3.1. Caractères organoleptiques

L'analyse visuelle de la matière première portant sur la couleur est l'aspect, a révélé une poudre cristalline blanche. Ce résultat est conforme aux spécifications de la monographie.

2.3.2. Détermination du point de fusion

- Le point de fusion de la phénytoïne doit être compris dans l'intervalle [295.0-298.0] °C.
- Le point de fusion de la phénytoïne synthétisée est de (295.7, 296.1, 296.2)°C pour les échantillons 1, échantillons 2 et échantillons 3, respectivement

- Cela signifie que les valeurs obtenues sont dans l'intervalle exigé par la monographie (pharmacopée européenne)

2.3.3. Solubilité

- La phénytoïne est pratiquement insoluble dans l'eau
- Très peu soluble dans le chlorure de méthylène
- Assez soluble dans l'alcool
- La phénytoïne se dissout dans les solutions diluées d'hydroxyde alcalin Comme le NaOH.

Ces résultats sont conformes aux spécifications de la monographie.

2.3.4. Observation des cristaux de la phénytoïne par microscopie électronique à balayage

L'analyse d'un échantillon de phénytoïne au MEB à différentes échelles (20µm, 50µm et 100µm) a permis d'observer et de confirmer l'aspect cristallin du principe actif conformément à la monographie (figure19).

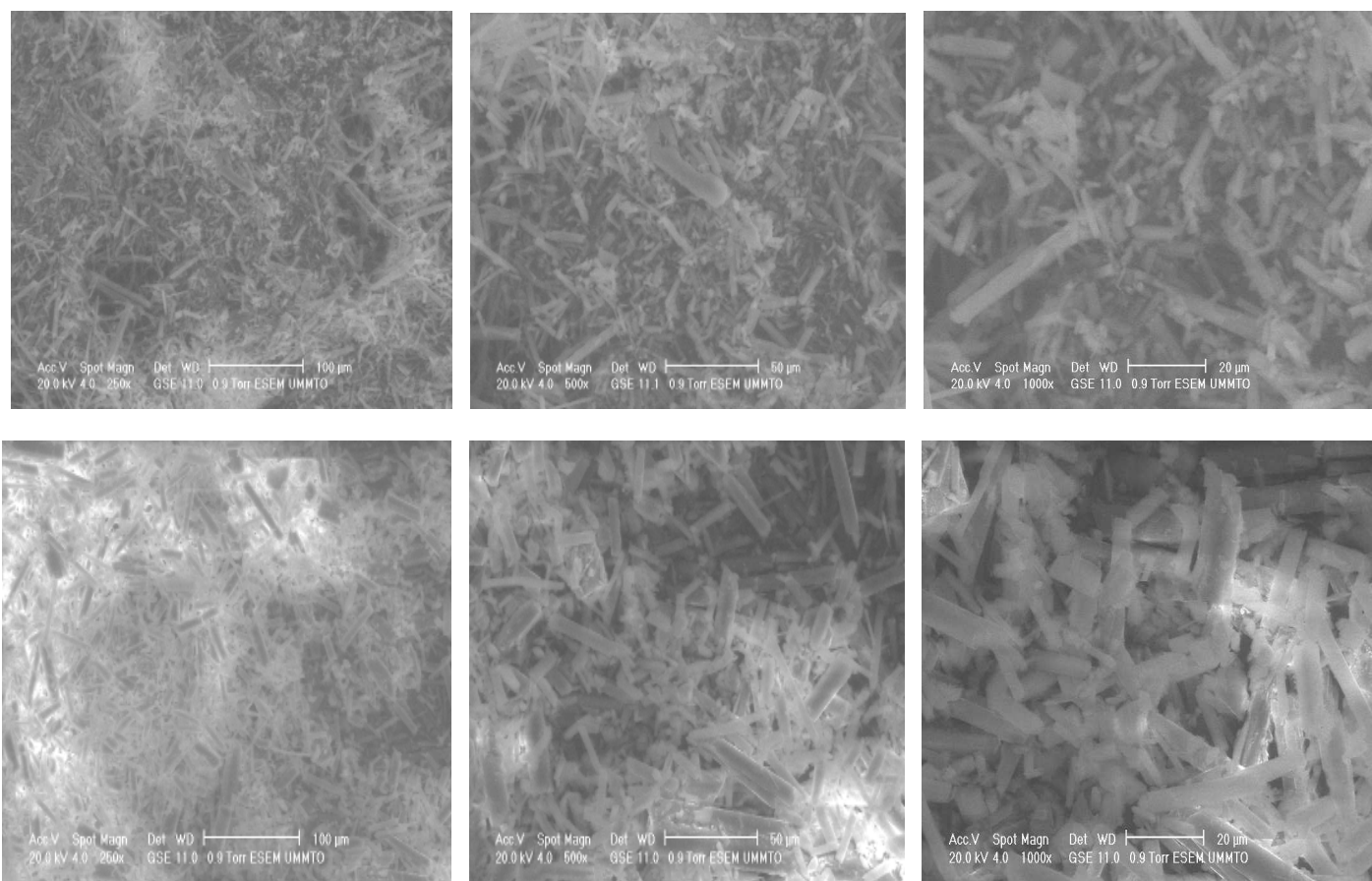


Figure 16: observation au MEB de deux échantillons de la phénytoïne synthétisée à différentes échelles

2.3.5. Identification de la phénytoïne

2.3.5.1. Caractérisation de la phénytoïne par des réactions colorimétriques

a. La réaction avec le sulfate de cuivre

Nous avons noté l'apparition d'un précipité rose cristallin qui est du à la formation d'un complexe avec le cuivre (figure 20).

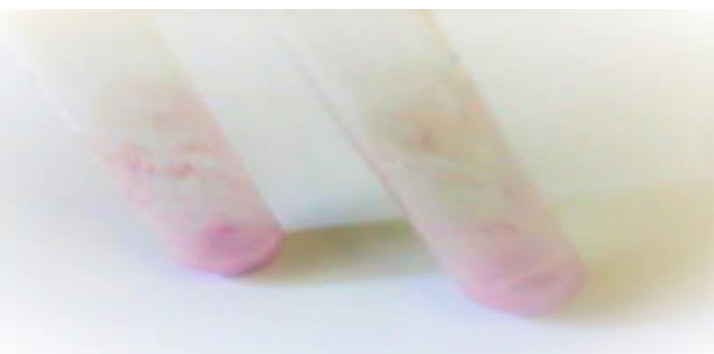
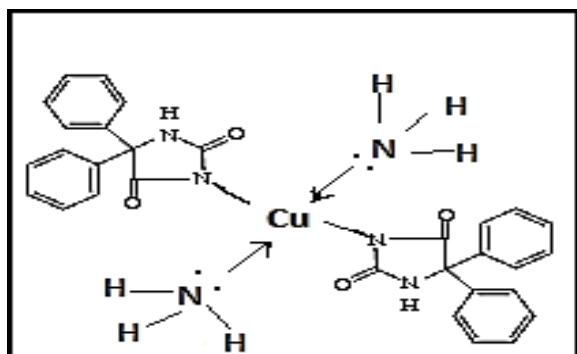
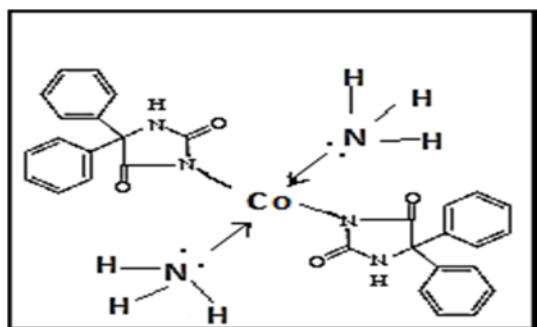


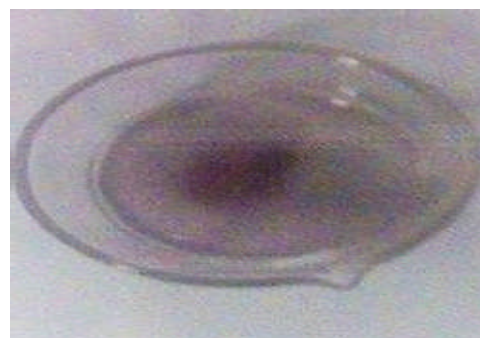
Figure 17 : Réaction de la phénytoïne avec le sulfate de cuivre

- Réaction positive ce qui signifie la présence de la phénytoïne.

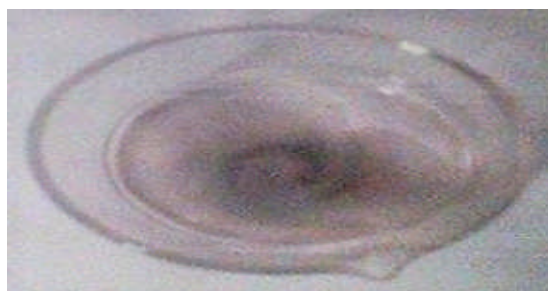
b. La réaction de PARRI



Complexe formé avec le cobalt



Apparition d'une coloration bleu violacée



Avec l'ajout de l'ammoniaque, apparition d'une coloration verdâtre

Figure 18 : réaction de PARRI

- Réaction positive ce qui confirme la présence de la phénytoïne.

NB : C'est une réaction qui peut être aussi positive avec les barbituriques.

2.3.5.2. Caractérisation de la phénytoïne par des méthodes spectroscopiques

a. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge

Nous avons noté que le spectre obtenu avec la phénytoïne synthétisée (figure 23) est superposable au spectre de référence (figure 22).

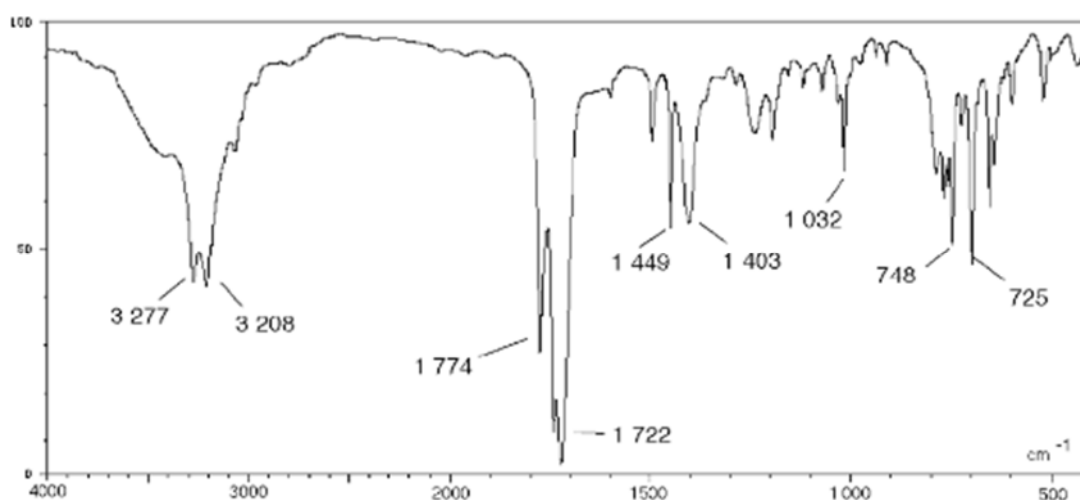


Figure 19 : Spectre infrarouge de référence[20]

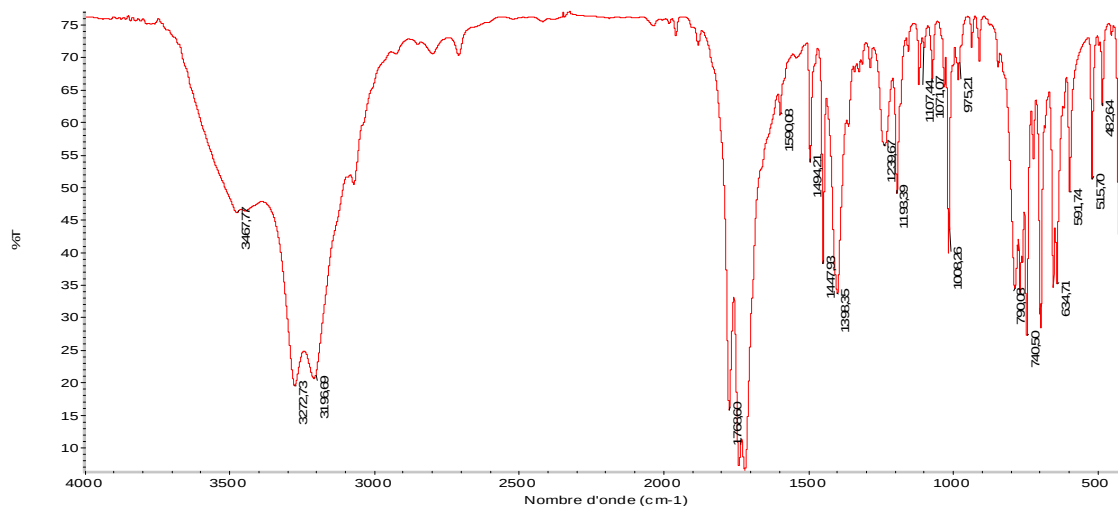


Figure 20 : Spectre infrarouge de l'échantillon de phénytoïne synthétisée.

L'ensemble des bandes caractéristiques des différentes fonctions présentes dans la phénytoïne sont retrouvées comme le démontre le tableau ci-dessous (Tableau XIII)

Tableau X : Caractérisation de la phénytoïne

Types de liaison	Nature	Valeurs théorique (IR de référence) (cm ⁻¹)	Valeurs expérimentales (IR échantillon 1) (cm ⁻¹)	Valeurs expérimentales (IR échantillon 2) (cm ⁻¹)	Valeurs expérimentales (IR échantillon 3) (cm ⁻¹)	Intensité F : fort m : moyen f : faible (Remarque)
O-H alcool lié issu de la tautomérisation	Elongation		3480	3480	3477.4	F (large)
N-H	Elongation	3277 3208	3276.5 3203.6	3275 3208	3280 3203.5	F (deux bonds car les deux azotes sons donne un environnement défient)
=C-H aromatique	Elongation		3069.3 3031.8	3072 3024	3075 3031.5	F (plusieurs bonds)
C=O	Elongation	1774 1722	1772 1720	1774 1722	1772 1714	F (deux bonde car les deux O sons dans un environnement défient)
N-H	Déformation		1598.2	1594.4	1598	m
C=C aromatique	Elongation	1449	1449.5	1449.7	1449.7	Variable 3 a 4 bonde
C-N	Elongation	1032	1031.3	1031.3	1031.3	m
C-H aromatique monosubstitué	Déformation		769.26 746.95 724.3 698.2	769.17 746.84 724.3 698.2	785.71 746.55 723.79 647.44	F (2 bond pour chaque cycle aromatique de la molécule)

b. Spectroscopie d'absorption dans l'ultra-violet

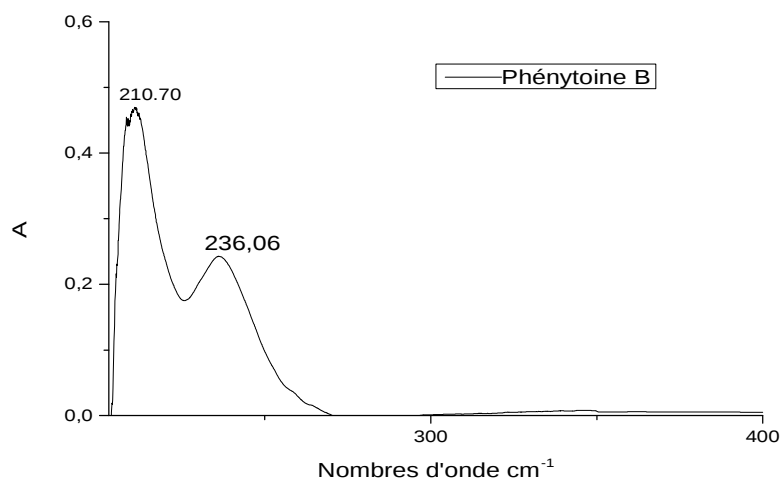


Figure 21 : Spectre d'absorption dans l'ultraviolet de la phénytoïne

Le maximum de l'absorption dans l'UV à $\lambda = 235$ caractéristique typique de la phénytoïne et retrouvée à 236,06.

$\lambda = 236,06$ correspond à une transition $\pi \rightarrow \pi^*$ des deux cycles aromatiques substituée sur le carbone 5

$\lambda = 210,70$ correspond probablement à une transition $n \rightarrow \delta^*$ dûe au passage d'un électron de doublet libre d'oxygène de l'état fondamentale à l'état excité.

2.3.6. Evaluation du degré de coloration de la solution de phénytoïne

- La solution de phénytoïne ne présente pas une coloration brune.

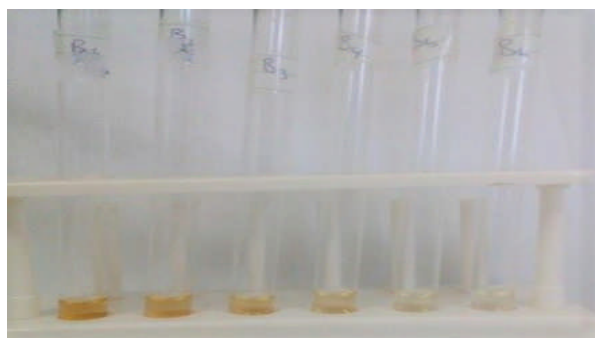


Figure 22: gamme étalon brune



Figure 23 : solution de phénytoïne comparée avec B6



Figure 24: comparaison avec B6

- La solution de phénytoïne n'est pas plus fortement colorée que la solution JB6

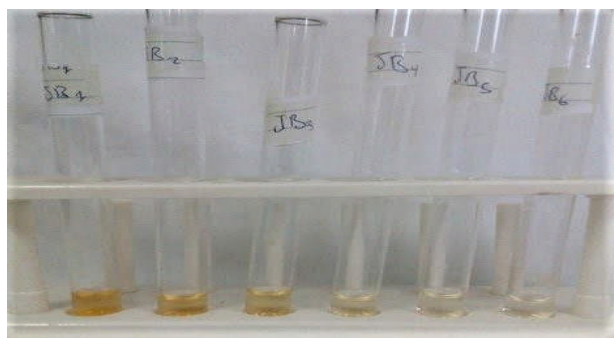


Figure 25 : gamme étalon jaune

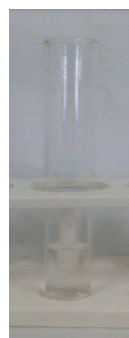


Figure 26: solution

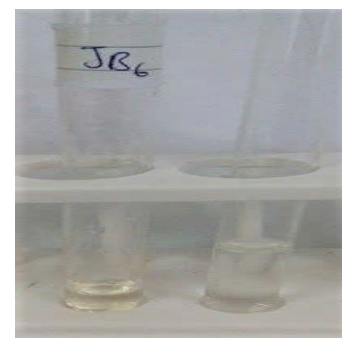


Figure 27 : comparaison

Brune

phénytoïne comparée avec JB6

avec JB6

- La solution de phénytoïne ne présente pas une coloration jaune.

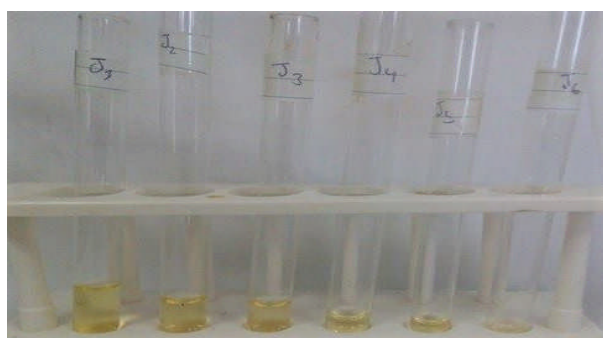


Figure 28: gamme étalon jaune

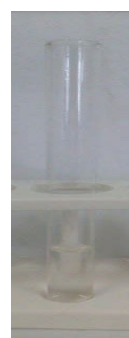


Figure 29: solution de

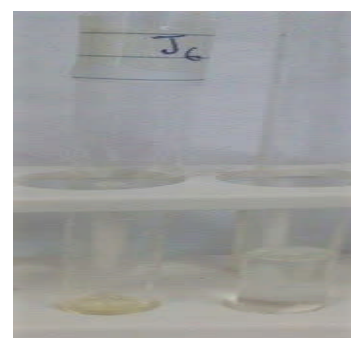


Figure 30: comparaison

Phénytoïne comparée avec J6

avec J6

- La solution de phénytoïne ne présente pas une coloration jaune verte.

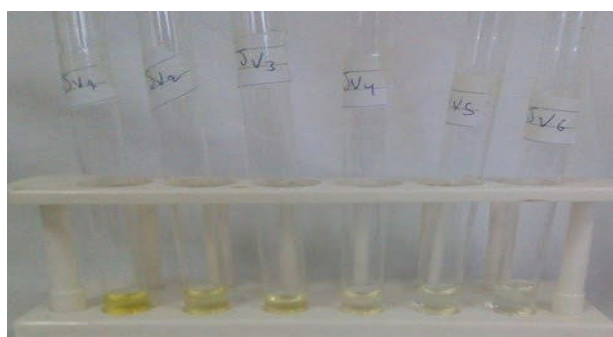


Figure 31: gamme étalon jaune verte



Figure 32: solution de

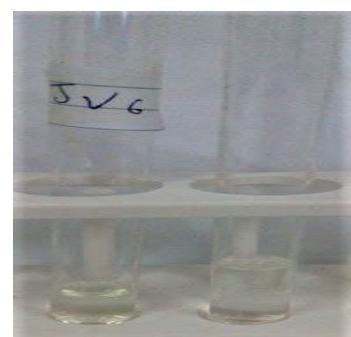


Figure 33 : comparaison

phénytoïne comparée avec JV6

avec JV6

- La solution de phénytoïne ne présente pas une coloration rouge.

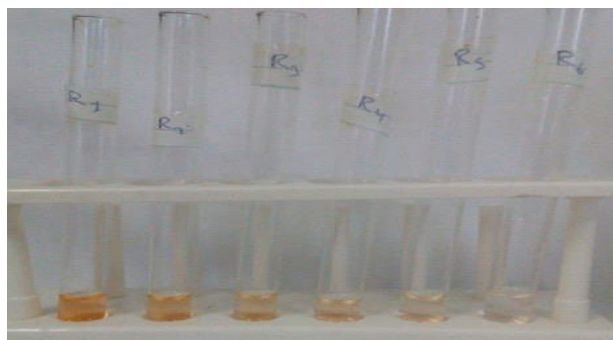


Figure 34 : gamme étalon rouge



Figure 35 : solution de
phénytoïne comparée avec R6



Figure 36 : comparaison
avec R6

2.3.7. Limpidité de la solution de phénytoïne

Par comparaison avec l'eau et les différents solvants préparés, la solution de phénytoïne est limpide.

2.3.8. Perte a la dessiccation

$$T\% = [(m_i - m_f) / m_i] \times 100$$

m_i : prise d'essai initiale pour notre matière première = 1.00114g

m_f : prise d'essai après une heure à l'étuve = 1g

$$T\% = 0.113 \%$$

D'après la pharmacopée européenne, la perte à la dessiccation doit être inférieure ou égale à 0,5%, donc le résultat obtenu est conforme aux spécifications de la monographie

2.3.9. Recherche des impuretés par des techniques chromatographiques

a. Recherche des impuretés par chromatographie sur couche mince

La plaque CCM obtenue après migration a été développée sous une lampe UV

Les deux spots réalisés pour notre produit ont montré une seule tâche de migration qui correspond au principe actif lui-même, l'impureté possible est le benzile qui n'a pas pu être mise en évidence par CCM.

Aucune impureté n'a été détectée par la technique CCM.

2.3.10. Détermination d'une limite de basicité ou d'acidité

- Le virage de l'indicateur au rouge ne nécessite pas plus de 0,4ml d'acide chlorhydrique à 0,01M
- Le virage de l'indicateur au bleu ne nécessite pas plus de 0,3 ml d'hydroxyde de sodium à 0,01M
- Les résultats sont conformes aux spécifications de la monographie

Conclusion

Le travail de fin d'études, nous a permis d'appliquer les connaissances acquises au cours de notre parcours de formation et de toucher à l'ensemble des produits important du domaine choisi : la partie chimique et le domaine pharmaceutique.

L'objectif principal de notre étude était la synthèse d'un antiépileptique « la phénytoïne ». Dans laquelle on a contourné en première partie de synthèse le problème de risque de toxicité du à l'utilisation du HCN ou bien de diminution du rendement en cas d'utilisation de la vitamine B1 par l'utilisation du KCN en solution avec l'eau pour former l'ion CN^- indispensable à la réaction, Et l'augmentation du rendement soin de 7,27 % par modification des conditions opératoires en deuxième partie.

L'identification a été réalisée par des réactions colorimétriques et appuyée par des méthodes spectroscopiques à savoir la spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge et l'ultra-violet et aussi une détermination du point de fusion.

La réaction de PARRI et la réaction avec le sulfate de cuivre étaient positives, ce qui confirme la présence des principales fonctions. L'interprétation des spectres infrarouge et UV-visible a démontré la présence de tous les pics caractéristiques de la molécule. La température de fusion était comprise dans l'intervalle exigé par la monographie, et l'aspect cristallin a été observé par le microscope électronique à balayage.

La recherche des impuretés a été réalisée grâce à des techniques chromatographiques à savoir la CCM.

D'autres tests supplémentaires figurant dans la monographie ont été réalisés comme la limpidité, le degré de coloration de la solution de phénytoïne, le test de solubilité et le test d'acide et alcalinité, ils étaient conformes aux exigences de la monographie.

Résumé

L'épilepsie est une affection chronique du cerveau caractérisée par la récurrence des crises épileptiques. Le 5,5-Diphénylimidazolidine-2,4-dione également connu sous le nom de la phénytoïne est une molécule antiépileptique qui occupe une place importante dans le traitement de la majorité des épilepsies.

L'objectif de notre étude était la synthèse et la caractérisation de la phénytoïne. On l'a obtenu par condensation de 2 molécules de benzaldéhyde pour obtenir la benzoïne. L'oxydation de la benzoïne permet d'obtenir le benzile. La condensation de ce dernier avec l'urée permet l'obtention de la phénytoïne.

L'identification a été réalisée grâce à des réactions colorimétriques qui caractérisent les principales fonctions. Les méthodes spectroscopiques à savoir la spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge afin d'avoir des informations structurel sur la molécule et une absorption dans l'UV pour une approche sur la nature des liaisons. l'aspect cristallin a été confirmé par le microscope électronique à balayage. La recherche des impuretés a été réalisée par une technique chromatographique (chromatographie sur couche mince).

Les résultats obtenus répondent aux exigences de la pharmacopée européenne 2008 (deuxième édition).

Mot clé :

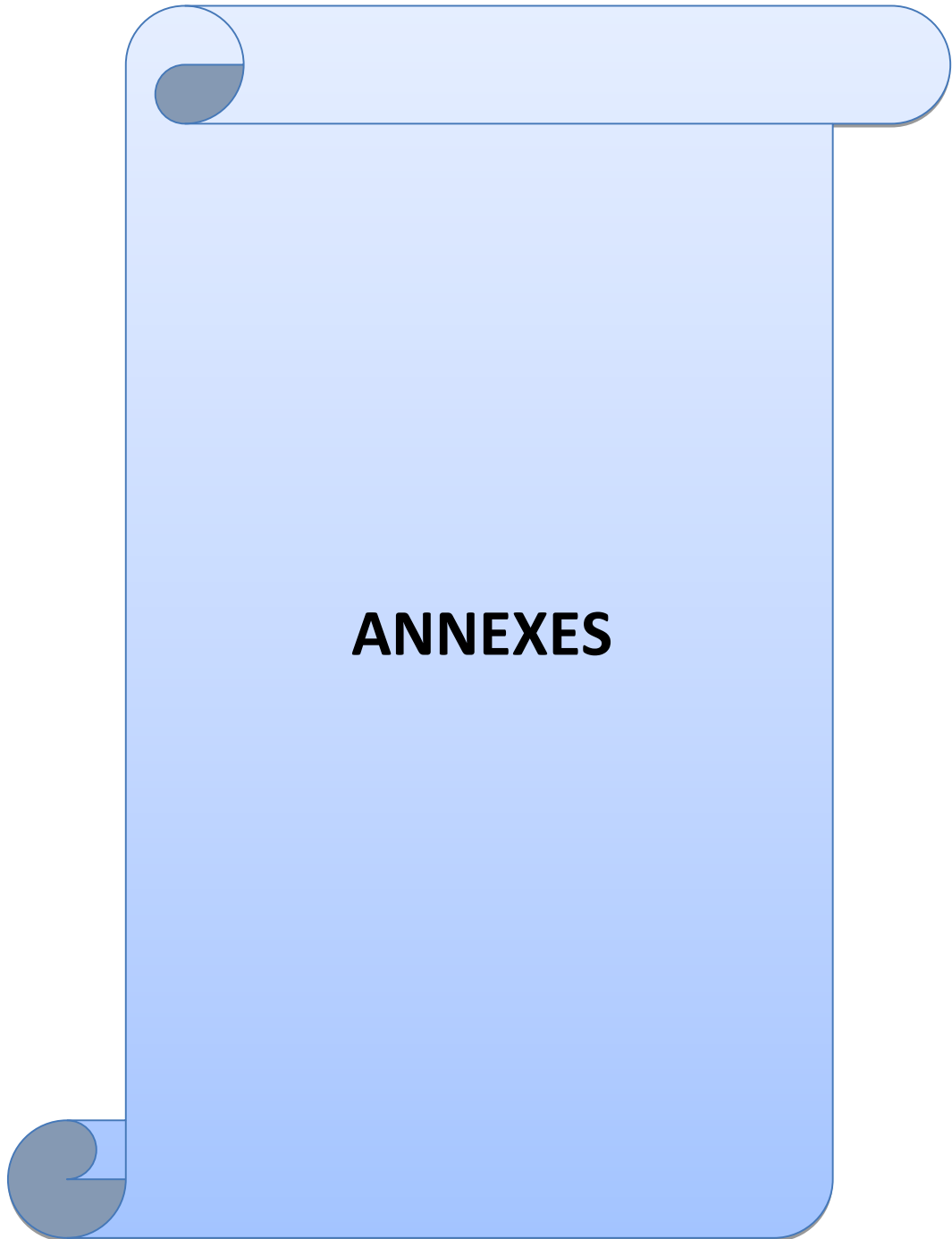
Phénytoïne ; Le 5,5-Diphénylimidazolidine-2,4-dione ; L'épilepsie ; crises épileptiques ; antiépileptique.

Bibliographie :

- [1] Fisher,R.S., et al., Epileptic seizures and epilepsy : definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for epilepsy,1989.30(4) :p.389-99
- [2] Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy.Epilepsia,1981.22(4) :p.489-501
- [3] Shneker,B.F.and N.B.Fountain,Epilepsy.Dis Mon,2003.49(7) :p.426-78
- [4] Elger,C.E.and D.Schmidt,Modern management of epilepsy : a practical approach.Epilepsy behav,2008.12(4) :p.501-39
- [5] AKIYAMA, T. & OTSUBO, H., ANTIEPILEPTIC DRUGS IN NORTH AMERICA. BRAIN AND Nerve = Shinkei Kenkyū No Shinpo, 2010, 62(5), p.519-526.
- [6] <http://univ.ency-education.com>. Pharmaco27.
- [7] Vincent GUY.2013. Histoire générale de l'Epilepsie, de ses traitements et des découvertes sur le système nerveux central de la préhistoire jusqu'à nos jours. THESE D'EXERCICE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE . UNIVERSITE TOULOUSE III- PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
- [8] AitIzem A.,Maincer S.,2015.synthèse et évaluation de la qualité d'un antiépileptique.docteur :Universite Mouloud Mammeri Tizi ouzou Faculté de Médecine Département de Pharmacie.
- [9] VIDAL ; Base de données en ligne des prescripteurs libéraux
- [10] Site du Collège National de Pharmacologie Médicale,(PHENYTOINE),[15/03 /2017]. «<http://pharmacomedicale.org> ».
- [11] rs-140407-DiHydan_RCP-Diphantoine-Kela.pdf. RESUME DES CARACTERISTIQUES DU PRODUIT. « ansm.sante.fr »

- [12] LAVOISIER, Traité de chimie thérapeutique, Volume 7, Médicaments actifs sur le système nerveux centrale, association française des enseignants de chimie thérapeutique.
- [13] BATAILLE X., PRZEDPELSKA E., ZIMINSKA M, L'actualité chimique, 2005.
- [14] GHERIB A, Travaux pratiques de chimie organique pharmaceutique, analyse fonctionnelle.
- [15] ARNAUD P., JAMART B., BODIGUEL J., BROSSE N, Chimie organique , 18^e édition.
- [16] Perrothon S, TP de chimie organiques : Oxydation de la benzoïne en benzyle, Abbi.
- [17] Kirkiacharain S, 1996, Guide de chimie thérapeutique ; Ellipses.
- [18] HOCINE S, Méthodes d'analyse spectroscopiques UV-visibles Infrarouge RMN Masse RPE
- [19] PHARMACOPÉE EUROPÉENNE - SUPPLÉMENT 6.4 DE LA 6^e EDITION, 2008
- [20] pharmaco européenne édition 2009.
- [21] pdf : La bithérapie rationnelle de l'épilepsie fait par Benjamin Duval à l'université de rennes.
- [22] Faerber J, 2004, cours microscopie électronique à balayage, institut de physique et de chimie des matériaux Strasbourg

Annexes



Annexes

Liste des annexs

Annexe I	Principes des différentes techniques utilisées
Annexe II	Monographie de la phénytoïne

1. principes des différentes techniques utilisées

1.1. Principe de chauffage à reflux

Un chauffage à reflux permet de chauffer un mélange réactionnel, à pression atmosphérique, sans que les vapeurs des composés chimiques contenus dans le ballon partent dans la salle. Si on chauffait directement le mélange réactionnel dans le ballon, les vapeurs partiraient dans la salle.

Si on bouchait le ballon, les gaz formés lors du chauffage feraient rapidement monter la pression dans le ballon, le bouchon sauterait et les vapeurs partiraient dans la salle.

Dans le cas du montage à reflux, le ballon est surmonté d'un réfrigérant à boules. Comme tout réfrigérant, il est ouvert en haut donc le mélange contenu dans le ballon est à la pression atmosphérique de la salle.

Les vapeurs s'élèvent, vont dans le réfrigérant puis se recondensent et retombent dans le ballon. On garde le mélange réactionnel sous forme liquide dans le ballon.

1.2. Principe de recristallisation

La recristallisation est une méthode de purification des composés solides. Elle agit sur la différence de solubilité entre le produit et les impuretés. Un bon solvant devrait dissoudre immédiatement ou pas du tout les impuretés, puis dissoudre seulement à chaud le produit. Finalement il doit permettre d'obtenir des cristaux bien formés du produit purifié. La pureté du composé pourra alors être déterminée grâce à la mesure du point de fusion.

1.3. Principe du MEB

Principe de la méthode

Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir des images de surfaces de tous les matériaux solides, à des échelles allant de la loupe (x10) à celle du microscope électronique en transmission (x500.000) ou plus.

Principe de fonctionnement du microscope électronique à balayage MEB

L'image MEB est une image reconstituée: une sonde, le faisceau d'électrons, balaye la surface de l'échantillon, un détecteur récupère de manière synchrone un signal induit par cette sonde pour en former une image, cartographie de l'intensité de ce signal.

Le MEB est constitué d'une source d'électrons de lentilles "condenseur" focalise sur un diaphragme. Une deuxième lentille "objectif" refocalise ce faisceau sur l'échantillon en un spot très fin (<15 à $200 \text{ \AA}$). Un jeu de bobines de déflection permet de déplacer le faisceau et donc de balayer l'échantillon. Ceci forme la sonde. Sous l'impact du faisceau d'électrons, il y a essentiellement :

- rétrodiffusion d'électrons du faisceau incident avec plus ou moins de perte d'énergie;
- émission d'électrons secondaires de faible énergie, provenant des couches externes des atomes de l'échantillon

1.4. Principe de la spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge (IR)

La spectroscopie IR est basée sur l'interaction de la lumière IR avec le nuage électronique des liaisons chimiques. Généralement dans la majorité des spectroscopies optiques comme la spectroscopie de fluorescence, l'absorption d'énergie permet à un électron d'une liaison chimique de passer d'un état fondamental à un état excité. Dans le cas de la spectroscopie d'absorption IR, le rayonnement émis par la source polychromatique n'est généralement pas assez énergétique pour provoquer des transitions électroniques, mais il induit des transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnelle. La transition vibrationnelle est également observée lors de la diffusion Raman, qui est une spectroscopie de diffusion inélastique utilisant une radiation monochromatique (laser) pour exciter les électrons d'une liaison chimique. Lors de cette interaction, il y a émission de radiations à des longueurs d'onde différentes de celle de la radiation incidente.

1.5. Principe de la spectroscopie d'absorption dans l'ultra violet (UV)

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (environ de 13000 à 50000 cm^{-1} soit 160 à 665 kJ/mol). L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons. Plus généralement, ils provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules.

1.6. Principe de la perte à la dessiccation

La dessiccation est un procédé d'élimination de l'eau d'un corps à un stade poussé. Il s'agit d'une déshydratation visant à éliminer autant d'eau que possible. Ce phénomène peut être naturel ou forcé.

1.7 Principe de la CCM

Le mélange est fixé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium). Il est entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque. Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire.

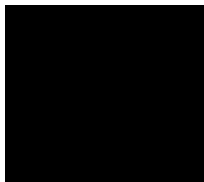
Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui peut se faire soit :

- par Pulvérisation d'un réactif caractéristique ;
- Par immersion dans un bain de permanganate de potassium ;
- Par pulvérisation de vapeur de diode ;
- Par observation à la lumière UV si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence ;

04/2009:1253

PHÉNYTOÏNE

Phenytoinum



C₁₅H₁₂N₂O₂

[57-41-0]

M_r 252,3

DÉFINITION 5,5-

Diphénylimidazolidine-2,4-dione.

Teneur : 99,0 pour cent à 101,0 pour cent (substance desséchée).

CARACTÈRES

Aspect : poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche.

Solubilité : pratiquement insoluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol à 96 pour cent, très peu soluble dans le chlorure de méthylène. La phénytoïne se dissout dans les solutions diluées d'hydroxydes alcalins.

IDENTIFICATION

Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (2.2.24).

Comparaison : phénytoïne SCR.

ESSAI

Aspect de la solution. La solution est limpide (2.2.1) et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JB₆ (2.2.2, Procédé II).

Dissolvez 1,0 g de phénytoïne dans un mélange de 5 ml d'hydroxyde de sodium 1 M et de 20 ml d'eau R.

Acidité ou alcalinité. Chauffez à ébullition pendant 2 min 1,0 g de phénytoïne avec 45 ml d'eau R. Laissez refroidir et filtrez. Lavez le filtre avec de l'eau exempte de dioxyde de carbone R et complétez le filtrat et les eaux de lavage réunis à 50 ml avec le même solvant. A 10 ml de solution, ajoutez 0,15 ml de solution de rouge de méthyle R. Le virage de l'indicateur au rouge ne nécessite pas plus de 0,5 ml d'acide chlorhydrique 0,01 M. A 10 ml de solution, ajoutez 0,15 ml de solution de bleu de bromothymol R1. Le virage de l'indicateur au bleu ne nécessite pas plus de 0,5 ml d'hydroxyde de sodium 0,01 M.

Substances apparentées. Chromatographie liquide (2.2.29).

Solution à examiner. Dissolvez 50 mg de phénytoïne dans la phase mobile et complétez à 50,0 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (a). Prélevez 1,0 ml de solution à examiner et complétez à 100,0 ml avec la phase mobile. Prélevez 1,0 ml de cette solution et complétez à 10,0 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (b). Dissolvez 2 mg de 2,2 diphénylglycine R (impureté C) dans 100,0 ml de phase mobile.

Solution témoin (c). Dissolvez 10 mg de phénytoïne pour conformité du système SCR (contenant les impuretés D et E) dans la phase mobile, ajoutez 1,0 ml de solution témoin (b) et complétez à 10,0 ml avec la phase mobile.

Colonne :

- dimensions : l = 0,25 m, Ø = 4,6 mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé postgreffé pour chromatographie R (5 µm).

Phase mobile : mélangez 20 volumes de méthanol R2, 35 volumes d'acétonitrile R1 et 45 volumes d'une solution de dihydrogénophosphate d'ammonium R à 5,75 g/l ajustée à pH 2,5 avec de l'acide phosphorique R.

Débit : 1,5 ml/min.

Détection : spectrophotomètre à 220 nm.

Injection : 20 µl de solution à examiner et des solutions témoins (a) et (c).

Enregistrement : 4 fois le temps de rétention de la phénytoïne.

Identification des impuretés : utilisez le chromatogramme fourni avec la phénytoïne pour conformité du système SCR et le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (c) pour identifier les pics dus aux impuretés C, D et E.

Rétention relative par rapport à la phénytoïne (temps de rétention = environ 4 min) : impureté C = environ 0,5 ; impureté D = environ 0,6 ; impureté E = environ 0,8.

Conformité du système : solution témoin (c) :

- résolution : au minimum 3,5 entre les pics dus aux impuretés D et E.

Limites :

- facteurs de correction : pour le calcul des teneurs, multipliez la surface du pic des impuretés suivantes par le facteur de correction correspondant : impureté D = 1,7 ; impureté E = 1,4 ;
- impureté E : au maximum 3 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,3 pour cent) ;
- impureté C : au maximum 2 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,2 pour cent) ;
- impureté D : au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,1 pour cent) ;
- impuretés non spécifiées : pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,10 pour cent) ;
- total : au maximum 5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,5 pour cent) ;
- limite d'exclusion : 0,5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,05 pour cent).

Métaux lourds (2.4.8) : au maximum 10 ppm.

2,0 g de phénytoïne satisfont à l'essai C. Préparez la solution témoin avec 2 ml de solution à 10 ppm de plomb (Pb) R.

Perte à la dessiccation (2.2.32) : au maximum 0,5 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C sur 1,000 g de phénytoïne.

Cendres sulfuriques (2.4.14) : au maximum 0,1 pour cent, déterminé sur 1,0 g de phénytoïne.

DOSAGE

Dissolvez 0,200 g de phénytoïne dans 50 ml de diméthylformamide R. Titrez par le méthanolate de sodium 0,1 M. Déterminez le point de fin de titrage par potentiométrie (2.2.20).

1 ml de méthanolate de sodium 0,1 M correspond à 25,23 mg de C₁₅H₁₂N₂O₂.

IMPURETÉS

Impuretés spécifiées : C, D, E.

Autres impuretés décelables (si elles sont présentes à une teneur suffisante, les substances suivantes seront détectées par l'un des essais de la monographie. Elles sont limitées par le critère général d'acceptation applicable

