

TP N° 01 : Recherche des salicylés dans les milieux biologiques par la réaction de TRINDER**1. Problématique**

Le suivi thérapeutique est une activité systématique d'analyse de médicaments et/ou de leurs métabolites actifs dans du matériel biologique, généralement du plasma et de l'urine, afin d'obtenir une efficacité thérapeutique maximale avec des effets toxiques minimes ou nuls. Il s'agit d'une procédure recommandée pour les patients utilisant l'acide acétylsalicylique (AAS), en raison de son utilisation chronique dans la prévention des maladies coronariennes, ainsi que de la forte variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques et de la faible observance de certains patients, en raison des effets indésirables de l'utilisation de l'aspirine.

Une grande variété de méthodes analytiques ont été développées pour la détermination des concentrations de salicylates dans les fluides et tissus biologiques. Ainsi, une analyse sûre et rapide du salicylate dans le sang est d'une importance primordiale en médecine, tout comme le contrôle de la qualité de l'acide acétylsalicylique dans sa production.

Dans les analyses cliniques, les techniques colorimétriques ont été largement utilisées en raison de la facilité de détermination du salicylate. Le test de Trinder (TRINDER, 1954) est la méthode colorimétrique la plus utilisée parmi toutes les méthodologies spectrophotométriques.

2. But et Principe

Ce TP décrit l'utilisation de la réaction de Trinder pour le dosage de l'acide acétylsalicylique dans les échantillons d'urines des patients utilisant l'acide acétylsalicylique (100mg) pour la prévention des maladies coronariennes. La méthode est basée sur la réaction entre les ions salicylate et les ions Fe^{3+} , résultant en la formation d'un complexe de couleur violette [Salicylate- Fe^{III}].

Parmi les matrices biologiques, où les agents toxiques sont recherchés, l'urine et le plasma sont considérés comme les matériaux de choix. Cependant, ces matrices peuvent être considérées comme très complexes, car elles sont riches en constituants qui peuvent compromettre le résultat analytique. Si nécessaire, elles doivent être soumises à un prétraitement, qui consiste à le débarrasser d'éventuelles interférences, permettant la sélection des analytes d'intérêt. A cet effet, la méthode d'extraction liquide-liquide (ELL) est utilisée. L'ELL est considérée comme une technique classique de préparation d'échantillons. Elle se caractérise par la partition de l'échantillon entre deux phases non miscibles (organique et aqueuse), et l'efficacité de l'extraction dépend de l'affinité de l'analyte pour le solvant d'extraction, ainsi que du rapport des phases et du nombre d'extractions qui sont

réalisés. Après extraction, le solvant est évaporé et le toxique suspect est identifié au moyen de tests colorimétriques.

3. Matériel et Réactifs

3.1. Matériel

- ✓ Ampoules à décanter
- ✓ Bêchers de 100 ml
- ✓ Erlenmeyers
- ✓ Porte ampoule à décanter
- ✓ pipettes
- ✓ Entonnoirs
- ✓ Papier filtre

3.2. Réactifs

- ✓ Dichlorométhane
- ✓ HCl (d=1.18)
- ✓ Réactif de Trinder
- ✓ Méthanol

4. Mode opératoire

4.1. Extraction

- Dans une ampoule à décanter de 250 ml introduire :
 - ✓ 5 mL d'urine
 - ✓ 15 mL de dichlorométhane
 - ✓ Quelques gouttes d'HCl (d=1.18)
- Agiter le mélange pendant 2 min. Laisser décanter ou centrifuger
- Après décantation, éliminer la phase aqueuse et filtrer la phase organique inférieure dans un erlenmeyer sur un papier filtre contenant du sulfate de sodium anhydre.
- Recueillir le filtrat dans un bécher puis évaporer le solvant organique au bain marie jusqu'à l'obtention d'un résidu sec.
- Reprendre le résidu dans 2 mL du méthanol.

4.2. Identification

- Ajouter quelques gouttes du réactif de Trinder au résidu sec obtenu de l'extraction liquide.
- L'apparition d'une coloration violette indique la présence des AAS. L'intensité de la coloration étant proportionnelle à leur concentration.