

TP N° 03 : Recherche des imipramines dans les milieux biologiques par la réaction de FORREST

1. Problématique

Les antidépresseurs tricycliques sont une classe de médicaments utilisés dans le traitement symptomatique de la dépression et d'autres syndromes dépressifs. Certains exemples d'antidépresseurs tricycliques comprennent l'amitriptyline, la nortriptyline, la clomipramine, la désipramine, l'imipramine, la doxépine, la fluoxétine et la maprotiline.

Leur utilisation est associée à un nombre élevé de cas d'intoxication et d'empoisonnement. La recherche de ces drogues dans les matrices biologiques à des fins légales est effectuée par le secteur de la toxicologie médico-légale. Pour cela, les tests colorés restent populaires pour de nombreuses raisons. Leur grand avantage par leur simplicité d'utilisation, car ils ne nécessitent pas l'emploi d'équipements de haute précision, ni de réactifs réservés aux laboratoires. Ils donnent des résultats perceptibles à l'œil nu, que ce soit avec changement de couleur (formation de produit coloré ou disparition de la couleur de l'analyte ou du réactif), formation de précipité ou production de gaz.

2. But et Principe

Ce TP décrit l'utilisation de le réactif FORREST pour la recherche des résidus d'imipramines dans les matrices biologiques des patients. La méthode est basée sur la réaction entre ces résidus avec une solution de dichromate de potassium.

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
- ✓ NaOH 40%
- ✓ Réactif de FORREST
- ✓ Méthanol
- ✓ Ethanol absolu.

4. Mode opératoire

4.1. Extraction

- Dans une ampoule à décanter de 250 ml introduire :
 - ✓ 5 mL d'urine
 - ✓ 1 mL de NaOH 40%
 - ✓ 15 mL de dichlorométhane
- Agiter le mélange pendant 2 min.
- Après décantation, éliminer la phase aqueuse et filtrer la phase organique sur un papier filtre contenant du sulfate de sodium anhydre.
- Récupérer 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 2 mL du réactif de FORREST au résidu sec obtenu de l'extraction liquide.
- En cas de recherche positive, des couleurs allant du jaune verdâtre au vert ou au bleu foncé indiquent la présence des imipramines
- La coloration de réaction est rapide, apparaît généralement dans les 5 secondes. S'il apparaît après quelques minutes, il s'agit probablement d'une interférence.