

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Matière
Filière : Chimie
Option : Chimie Inorganique

Par :
Behiz Imane
BenDjeddou Yousra

THEME

Simultaneous electrochemical determination of atorvastatin and ramipril in biological samples

Détermination électrochimique simultanée de l'atorvastatine et du Ramipril dans des échantillons biologiques

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. Bouchouka Elmouloud	MCB	Président
Mr. Sebiane Sofiane	MAA	Examineur
Mr. Douliche Merzak	MCA	Promoteur
Mr. Saidat Boubakeur	Professeur	Co-promoteur

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH, le tout-puissant de nous donner la force et la patience pour accomplir ce travail.

Nous remercions chaleureusement toute l'équipe du laboratoire et toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Nous remercions particulièrement le Mr. Doulache Merzak et Co-encadreur Mr. Saidat Boubakeur pour la qualité de son encadrement, sur toutes les connaissances scientifiques, pour nous avoir dirigés et encouragés à faire ce travail.

Je souhaite au président du jury Mr. Bouchouka Elmouloud et aux membres du jury Mr. Sebiane Sofiane de trouver ici un grand merci pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner et de juger notre travail.

Nous remercions tous le personnel de l'université d'Amar TELIDJI de Laghouat, Nos remerciements vont particulièrement aux enseignants et administrateurs du département des sciences de la matière.

Enfin, Nous exprimons nos vifs remerciements à tous les membres de nos familles et spécialement à nos parents.

Sommaire

I .Introduction	1
Synthèse bibliographique	1
I.1. Capteurs électrochimiques.....	4
I.2. Les différents types de capteurs électrochimiques	4
I.2.1 Capteurs potentiométriques	4
I.2.2. Capteurs ampérométriques.....	5
I.2.3 Capteurs conductimétriques.....	6
I.3. Validation d'une méthode analytique.....	7
I.3.1 Spécificité (sélectivité).....	8
I.3.2 Linéarité	8
I.3.3 Fidélité	8
I.3.4 Limite de détection (LOD).....	8
I.3.5 Limite de quantification (LOQ).....	9
I.3.6 Sensibilité.....	9
I.4 Les électrodes chimiquement modifiées (ECMs).....	9
I.5 Les nanotubes de carbone (NTCs)	10
I.5.1 Nanotubes monofeuillets (ou monoparois).....	10
I.5.2 Les nanotubes de carbone multi feuilletts ou multi parois (MWCNTs).....	10
I.6. Atorvastatine.....	11
I.7 Ramipril	11
I.8. Effet combiné d'ATOR et RAM.....	11
I.9. Détermination simultanée d'ATOR et de RAM	12
I.10 Techniques électrochimiques	12
I.10.1 Voltammétrie cyclique.....	12
I.10.2 Voltammétrie différentielle à onde carrée	13
Partie Expérimentales	4
II.1. Produits chimiques et appareillages utilisés	16

II.1.1. Produits chimiques	16
II.1.2. Appareillage et montage électrochimique	16
□ Cellule électrochimique.....	17
II.2 Méthodes de Préparation des solutions :.....	17
II.2.1 Préparation de tampon Britton-Robinson (0.04 M).....	17
II.2.2 Préparation de la solution d'Atorvastatine (ATOR) et Ramipril (RAM).....	17
II.2.3 Prétraitement de l'échantillon de sérum	17
II.2.4 Préparation de l'électrode modifiée MWCNTs/ECV.....	18
Résultats et Discussion	20
II.2.4.1 Caractérisation par microscope électronique à balayage (MEB).....	20
II.2.4.2. Caractérisation de l'électrode modifiée par la voltammétrie cyclique	20
II.3 Facteur de rugosité de l'électrode MWCNT/ ECV	21
II.4 Application à la détection simultanée de l'ATOR et du RAM	22
II.5 Effet de la quantité des nanotubes de carbones multifeuillets	23
II.6 Effet du pH.....	24
II.7 Courbes d'étalonnage et caractéristiques analytiques.....	24
II.8 Effet des interférences.....	26
II.9. Dosage de l'ATOR et du RAM dans le sérum sanguin	27
CONCLUSION	31
Références	32

Table des Figures

Synthèse bibliographique

Figure	Titre	Page
Figure I.1	Détection électrochimique.	4
Figure I.2	Principe de mesure potentiométrique : accumulation de charges électriques à la surface de l'électrode indicatrice.	5
Figure I.3	Schéma d'un montage de détection par ampérométrie	6
Figure I.4	Schéma de principe des mesures conductimétrique	7
Figure I.5	la structure géométrie de (MWCNTs)	11
Figure I.6	Evolution du potentiel en fonction du temps en voltammétrie cyclique.	12
Figure I.7	Voltampérogramme pour un système réversible	13
Figure I.8	Motif de potentiel appliqué à l'électrode pendant une analyse par SWV.	13
Figure I.9	Réponse en courant typique d'un voltammogramme à vague carrée.	14

Partie Expérimentales

Figure	Titre	Page
Figure II.1	photographie de la chaine de mesures électrochimiques.	16
Figure II.2	préparation de concentration d'ATOR et RAM (1 à 50 μ M) dans le sérum humain	18
Figure II.3	Différentes étapes de la préparation de MWCNTs/ECV	19
Figure II.4	Images MEB de (A) l'ECV nue et (B) MWCNTs/ECV.	20

Figure II.5	Voltammogrammes de l'électrode ECV et MWCNT/ ECV. Mesures effectuées dans 5.0 mM de $K_3 [Fe(CN)_6] / K_4[Fe(CN)_6]$ dans le KCl (0.1 M) entre -0.4 et 0.6 V, avec une vitesse de balayage 50 mV/s .	21
Figure. II.6	Voltammogrammes à vague carrée obtenus dans une solution de 0.1 M H_2SO_4 contenant un mélange d'ATOR et RAM à 0.1mM sur l'ECV (courbe bleu) et sur MWCNTs/ECV (courbe rouge).	22
Figure II.7	Effet de la quantité de NTC multifeuillets sur la détection de 1×10^{-4} M de l'ATOR et du RAM	23
Figure II.8	Effet du pH de la solution tampon acétate sur la détermination de 1×10^{-4} M de l'ATOR et du RAM.	24
Figure II.9	Courbes de calibration de la détermination simultanée de l'ATOR et du RAM dans une gamme de concentration allant de 10 à 100 μ M en utilisant MWCNTs/ECV	25
Figure II.10	Droite d'étalonnage résultante pour la détermination du : (A) ATOR (B) RAM, obtenus à une gamme de concentration allant de 10 à 100 μ M	25
Figure II.11	Effet des espèces interférents sur la détection de 5×10^{-6} M du l'ATOR et du RAM.	27
Figure II.12	Voltammogrammes à vague carrée obtenus sur l'électrode modifiée MWCNTs/ECV contenant des concentrations croissantes de (A) ATOR (B) RAM dans le sérum.	28
Figure II.13	Droite d'étalonnage résultante pour la détermination du : A) ATOR B) RAM, dans le sérum humain.	28

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau 1	liste des produits utilisés dans la partie expérimentale	16
Tableau 2	La rugosité de la surface obtenue pour les électrodes ECV et MWCNT /ECV	22
Tableau 3	Comparaison des résultats obtenus par chromatographie, spectrométrie	26
Tableau 4	la variation de la réponse de courant du nitrite calculé du Bias	27
Tableau 5	performances analytiques du MWCNTs/ECV pour la détection de l'ATOR et du RAM dans le sérum humain	29

Liste des abréviations

HPLC : la chromatographie liquide à haute performance
LC-MS : la chromatographie liquide-spectrométrie de masse
UV : la spectrophotométrie
ATOR : Atorvastatine
RAM : Ramipril
CV : Voltammétrie cyclique
Swv : Voltammétrie différentielle à onde carrée
ECV : Electrode carbone vitreux
LD : Limite de détection
LQ : Limite de quantification
ECMs : Les électrodes chimiquement modifiées
NTCs : Les nanotubes de carbone
MWCNTs : Les nanotubes de carbone multi feuillets ou multi
LC / MS/MS : Chromatographie liquide – Spectrométrie de masse en tandem
RP-HPLC : Phase inversé la chromatographie liquide à haute performance
MEB : la microscopie électronique à balayage

INTRODUCTION

I .Introduction

Depuis plus d'un siècle, l'électrochimie offre à l'industrie chimique un grand nombre de procédés irremplaçables. Elle est aujourd'hui au cœur de toutes les autres sciences : la santé et le vivant, les matériaux, les énergies sous toutes leurs formes et en particulier les énergies renouvelables, l'électrocatlyse et électroanalyse (capteurs électrochimique). Jusqu'à présent, plusieurs méthodes sont disponibles pour la détermination des produits pharmaceutiques dans différents types d'échantillons. Celles-ci incluent la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) et la spectrophotométrie UV. Ces techniques sont fiables et précises, cependant elles nécessitent un appareillage lourd, coûteux et très sophistiqué, une main d'œuvre qualifiée et parfois une longue préparation préalable des échantillons. A cet égard, le développement de nouvelles méthodes fiables, sensibles, sélectives et peu coûteuses pour la détection des molécules inorganiques, organiques et biomolécules est souhaitable. Les techniques électrochimiques utilisant des électrodes modifiées en tant que capteurs se sont révélés une alternative prometteuse aux méthodes conventionnelles pour l'analyse qualitative et quantitative de métaux lourds et d'une variété de molécules organiques et inorganiques. En effet, les systèmes de détection électrochimique offrent de nombreux avantages tels qu'une instrumentation simple, une haute sensibilité et sélectivité, une facilité d'utilisation, une miniaturisation possible de l'instrumentation, un prétraitement minimal de l'échantillon, un temps d'analyse court, une portabilité et une possibilité d'analyse sur terrain.

Ce travail de mémoire est une contribution au développement de nouveaux matériaux fonctionnels appliqués à l'électrochimie analytique. Il s'agit de développer de nouvelles électrodes modifiées ayant de grandes performances analytiques par dépôt de couches minces des nanotubes de carbones multi-parois déposées sur un substrat de carbone vitreux. Son utilisation comme capteur électrochimique dédiés à la détection simultanée de substances d'intérêt pharmaceutique, telle que l'atorvastatine et le ramipril.

Ce mémoire s'articule en deux chapitres:

Le premier chapitre est dédié à la présentation des différents types de capteurs électrochimique et leurs principes de fonctionnement. Nous présenterons ensuite les propriétés chimiques et physiques des nanotubes de carbone. Aussi tout au long de ce chapitre, les différentes techniques électrochimiques utilisées dans le cadre de ce travail seront présentées.

Le deuxième chapitre, l'interface modifiée sera d'abord appliqué à la détection simultanée de l'ATOR et du RAM dans des solutions modèles, afin de déterminer les performances analytiques du capteur (seuil de détection, domaine de linéarité, sensibilité etc...). Les résultats du capteur électrochimique seront comparés à ceux des principaux travaux rencontrés dans la bibliographie.

A la fin de ce chapitre, nous présenterons les performances du capteur appliqué à l'analyse des deux molécules étudiées dans le sérum humain.

Une conclusion générale résume l'essentiel des résultats trouvés dans ce présent travail.

Synthèse bibliographique

I.1. Capteurs électrochimiques

Principe : Les équilibres électrochimiques réalisés à des interfaces électrode | électrolyte sont mis à profit pour la réalisation de capteurs permettant la mesure de la concentration d'une espèce en solution. Ces capteurs comprennent une électrode sélective d'une espèce et une électrode de référence de potentiel mesurée aux bornes du capteur, proportionnelle à l'activité de l'espèce concernée, suit une relation analogue, dans sa forme, à celle de Nernst [1].

Les capteurs électrochimiques sont classés selon leur mode de transduction: Potentiométrique, conductimétrique ou ampérométrique comme dans la figure (I-1).

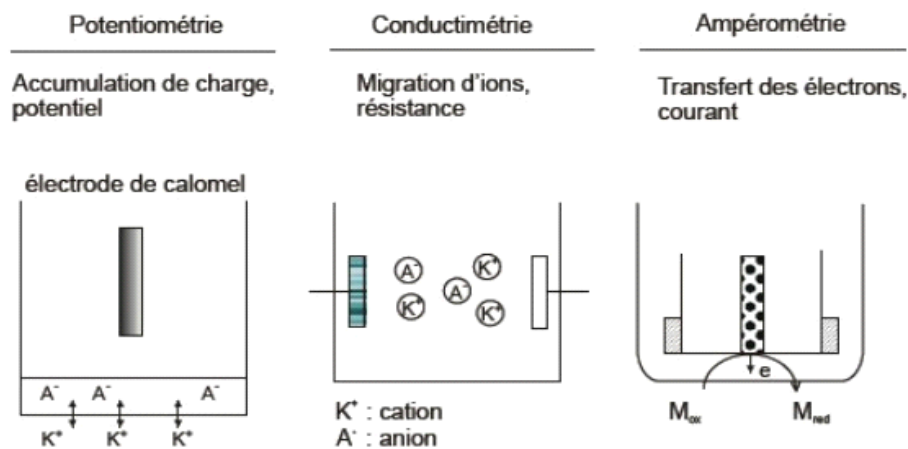


Figure I.1 : Détection électrochimique.

Le capteur potentiométrique et ampérométriques sont les plus répandus mais il y a peu de travaux portant sur les capteurs conductimétrique. Toutefois, depuis les années 1980, les capteurs conductimétrique commencent à être à leur tour de plus en plus utilisés compte tenu de leur facilité d'élaboration [2].

I.2. Les différents types de capteurs électrochimiques

I.2.1 Capteurs potentiométriques

Le potentiel du capteur ou électrode (qui n'est parcourue par aucun courant) est mesuré par rapport à un potentiel de référence. Ce dernier est obtenu par une électrode de référence. Cette condition de courant nul est d'autant mieux respectée que la résistance aux bornes de laquelle sont branchées les électrodes est plus grande. En pratique, les voltmètres aux entrées desquels sont reliées les électrodes ont des impédances d'entrée très grandes ($> 10^{12}\Omega$). La réponse du capteur suit la loi de Nernst :

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \times \left(\frac{A_{ox}}{A_{red}} \right) \quad \text{Eq. I. 1}$$

Avec

E^0 (V) : potentiel normal du couple Ox/Red,

R : $(8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})$ constante molaire des gaz,

T : (K) température absolue,

F : $(9,648\,456 \times 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1})$ constante de Faraday

Cette expression est vérifiée si la concentration de l'oxydant (et/ ou du réducteur) est supérieure à 10^{-5}M ; au-dessous de cette concentration le potentiel d'équilibre est perturbé par l'électrolyse d'impuretés (dont l'oxygène résiduel).

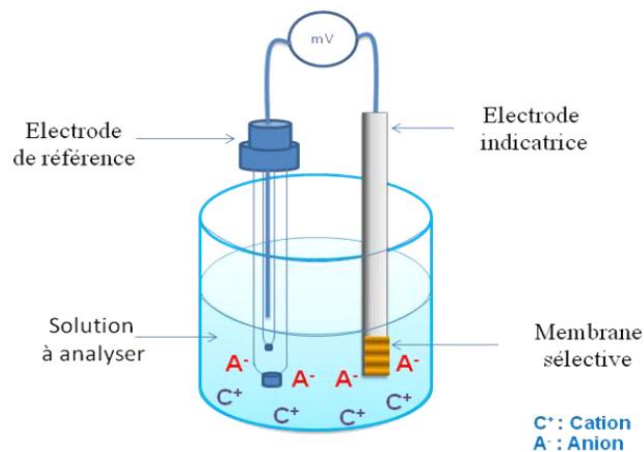


Figure I.2: Principe de mesure potentiométrique : accumulation de charges électriques à la surface de l'électrode indicatrice.

Ces électrodes peuvent être utilisées pour un dosage de CO_2 , pH, ions (nécessite une membrane) [3]. L'électrode de référence la plus utilisée est en verre, saturée en calomel. Cette technique a l'avantage d'être peu coûteuse, simple d'utilisation et rapide, cependant elle est peu sensible et manque de reproductibilité.

I.2.2. Capteurs ampérométriques

L'allure d'une courbe intensité-potential de réduction d'une espèce réductible dissoute, obtenue en appliquant une surtension entre une électrode indicatrice (conducteur électronique) et une électrode de référence. Pour une surtension suffisamment importante ($\gg EA$), on atteint un palier limite de diffusion pour lequel l'intensité est proportionnelle à la concentration de l'espèce réductible. Les techniques d'ampèremètre, de voltammétrie et de polarographie sont basées sur la mesure de courants limites de diffusion d'espèces électroactives.

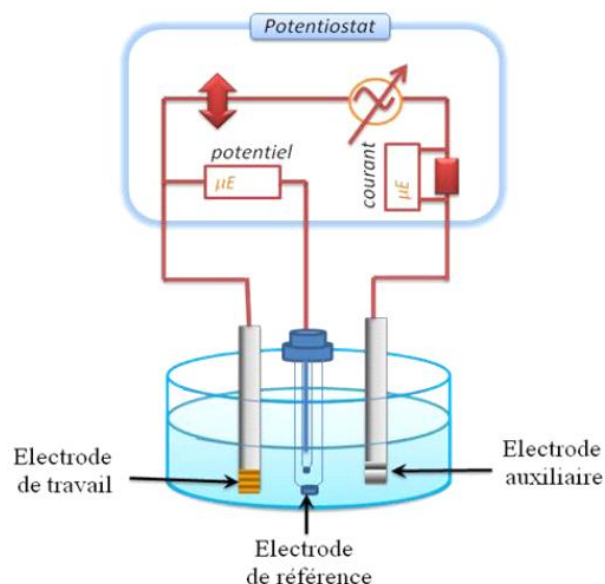


Figure I.3 : Schéma d'un montage de détection par ampérométrie

Nous avons orienté notre thèse vers ce type de capteurs. En effet, ceux-ci présentent les deux caractéristiques essentielles que l'on attend d'un capteur dans le domaine de l'électroanalyse. Ils sont sélectifs en termes d'espèces puis que le niveau de surtension permet de discerner une espèce caractérisée par ce potentiel. Ils permettent également de quantifier les espèces cibles avec une assez bonne précision et pour des seuils de détection assez bas. L'utilisation de ces capteurs est associée à un protocole analytique reposant sur une technique électrochimique ampérométrique pour laquelle le traitement électrochimique imposé et le traitement du signal induit peuvent faire l'objet d'un certain nombre de variantes que le manipulateur pourra choisir.

I.2.3 Capteurs conductimétriques

La conductance électrique G d'un corps, inverse de sa résistance, est proportionnelle à la surface S de la section perpendiculaire à la direction du courant et inversement proportionnelle à sa longueur l :

$$G = \frac{\gamma S}{l} \quad \text{Eq. I. 2}$$

Avec G conductance (S), γ conductance spécifique ou conductivité, caractéristique du corps ; elle est exprimée en siemens par centimètre lorsque la surface est donnée en cm^2 et la longueur en cm.

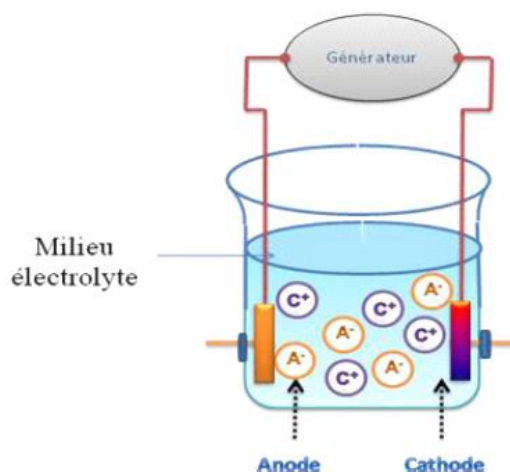


Figure I.4: Schéma de principe des mesures conductimétrique

La conductance de cellule est proportionnelle à la concentration de l'électrolyte dans laquelle elle est plongée. Un étalonnage préalable dans une solution de concentration connue est nécessaire. Les mesures sont effectuées à courant alternatif afin d'éviter des variations de résistance engendrées par la polarisation des électrodes à courant continu. Ce type de capteur peut servir, par exemple, à mesurer la salinité de l'eau ainsi que tester la pureté de l'eau [4].

I.3. Validation d'une méthode analytique

La validation d'une méthode analytique est un concept appliqué dans tous les domaines d'industries pharmaceutiques, biopharmaceutiques, chimiques, agroalimentaires, cosmétologies... etc. Elle fait partie de système d'assurance qualité d'un laboratoire qui doit faire l'objet d'évaluer les performances de la méthode d'analyse utilisée dans des conditions analytiques bien précises et d'assurer la fiabilité et la traçabilité de ces résultats produits, par l'étude de certains paramètres (critères de validation) au moyen d'outils statistiques. En effet la validation est une étape obligatoire du cycle de vie d'une procédure analytique comme il a été défini et publié dans les différents principaux référentiels, documents et guides. [5]. [6]

La validation analytique a pour but de rendre des résultats suffisamment fiables, garantir aux autorités compétentes ainsi qu'aux laboratoires d'analyse que chaque analyse réalisée ultérieurement une fois la procédure validée sera la plus exacte possible ; c'est-à-dire l'écart entre la valeur calculée et la vraie valeur sera inférieure aux limites d'acceptation selon la procédure. Autrement dit, l'objectif de la validation est de démontrer que la procédure en question correspond à l'usage auquel elle est destinée. Il est important de définir certains termes fréquemment rencontrés en validation:

I.3.1 Spécificité (sélectivité)

La spécificité d'une méthode analytique est sa capacité à établir de manière univoque l'existence, l'identification de la substance à analyser en présence d'autres composants susceptibles de l'accompagner (impuretés, interférences...).

Selon cette définition, il s'agit de démontrer que la ou les substance(s) analysée(s) au sein de la matrice est bien le ou les analyte (s) recherché(s) [5],[7].

I.3.2 Linéarité

La linéarité d'une méthode analytique est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage à fournir des résultats directement proportionnels à la quantité ou à la concentration d'analyte dans l'échantillon. [Concentration calculé = fonction (concentration introduite) [5],[7]

I.3.3 Fidélité

Ce critère veut dire l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures répétées et effectuées sur un même échantillon homogène et dans des conditions constantes et déterminées, il faut tenir compte qu'elle n'est pas en rapport avec la valeur vraie ou spécifiée, elle traduit seulement la distribution des erreurs aléatoires, elle s'évalue à deux niveaux: la répétabilité, et la reproductibilité (inter laboratoire); la définition de ces dernières est donnée ci-dessous:

A) Répétabilité : c'est-à-dire que les résultats d'essais indépendants sont obtenus dans des conditions de répétabilité: qui veut dire : la même méthode, sur des échantillons d'essais identiques, dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et ceci pendant un court intervalle de temps. [5]

B) Reproductibilité : veut dire que les résultats d'essais sont obtenus dans des conditions de reproductibilité : la même méthode, des échantillons d'essais identiques mais dans différents laboratoires avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents. [5]

I.3.4 Limite de détection (LOD)

C'est la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée dans un échantillon au cours d'une procédure d'analyse mais ne pouvant pas être quantifiée dans les conditions expérimentales décrites dans la procédure. [5],[8] .LOD est calculée selon :

$$LOD = \frac{3\sigma}{p} \quad \text{Eq. I. 3}$$

Où σ est l'écart type résiduel de la droite d'étalonnage et p est la pente de la droite.

I.3.5 Limite de quantification (LOQ)

C'est la plus petite quantité d'analyte pouvant être dosée dans un échantillon au cours d'une procédure d'analyse avec une exactitude définie dans les conditions expérimentales décrites dans la procédure. [5]. La limite de quantification LOQ est calculée selon :

$$LOQ = \frac{10\sigma}{p} \quad \text{Eq. I. 4}$$

L'écart type résiduel dans le cas d'une corrélation linéaire est donné par l'équation :

$$\sigma = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (m_i - \bar{m})^2}}{n - 1} \quad \text{Eq. I. 5}$$

I.3.6 Sensibilité

C'est le rapport de la variation de la réponse de la méthode d'analyse à la variation de la quantité ou la concentration d'analyte. C'est-à-dire on parle de sensibilité si une faible quantité ou concentration d'analyte entraîne une variation significative de la réponse. [5]

I.4 Les électrodes chimiquement modifiées (ECMs)

Le contrôle des propriétés physiques et chimiques de l'interface électrode/électrolyte permet d'améliorer la réactivité et la sélectivité d'une réaction électrochimique ce contrôle est en particulier rendu possible par une modification de l'électrode, en immobilisant irréversiblement une espèce chimique à sa surface. L'électrode ainsi modifiée acquiert les propriétés chimiques et électrochimiques du système immobilisé (molécule simple, assemblage moléculaire, matériau macromoléculaire, matériau hybride organique-Inorganique, etc.).

Le terme général d'électrode chimiquement modifiée (ECM) [9] désigne toute électrode à la surface de laquelle une espèce chimique aux propriétés spécifiques (groupe redox, catalyseur, photo-sensibilisateur, complexant, colorant, etc.)

Les électrodes chimiquement modifiées permettent le développement de procédures analytiques utilisant des réactifs immobilisés (molécules complexantes, matériau d'électrode anionique ou cationique...). Un des avantages de ces systèmes est qu'ils nécessitent l'utilisation d'une quantité minimum de réactifs, souvent coûteux, pour réaliser les analyses.[10]

La modification du substrat conducteur peut entraîner une cinétique de transfert d'électrons améliorée. Le carbone vitreux est parmi les substrats les plus couramment utilisés pour la modification car il offre une large fenêtre de potentiel avec de faibles courants de fond et il est

chimiquement stable. L'utilisation d'électrodes modifiées chimiquement peut aider à la détection sélective, sensible et reproductible de l'ATOR et de la RAM en présence d'autres interférences en réduisant la résistance ohmique associée à la large fenêtre de potentiel [11]

I.5 Les nanotubes de carbone (NTCs)

Les nanotubes de carbone sont une forme allotropique du carbone appartenant à la famille des graphènes. Ce sont des matériaux très résistants et durs et ils ont des conductivités électrique et thermique très élevées. En fonction de leur chiralité, ils peuvent être métalliques ou semi-conducteurs. Les nanotubes de carbone semi-conducteurs sont généralement de type p avec une très grande mobilité de charge. [12] Il existe principalement deux types de nanotubes de carbone: les mono-feuillets et les multi feuillets; il y a aussi les double-feuillets qui ont des propriétés à mi-chemin entre les deux précédents.

I.5.1 Nanotubes monofeuillets (ou monoparois)

Les nanotubes de carbone monofeuillets (SingleWall NanoTubes, SWNT) ont été découverts en parallèle par Béthune [13] et Iijima en 1993.

Un nanotube monofeuillet est une feuille de graphène enroulée sur elle-même, de manière à former un cylindre unique. Le nano-objet obtenu est alors unidimensionnel. Les atomes de carbone restent dans un état d'hybridation sp^2 . Le nanotube idéal ainsi formé présente deux extrémités, qui peuvent être fermées par deux dômes, comme des demi-fullerènes, mais pouvant comporter des défauts dans le cas d'un nanotube réel. L'enroulement de la feuille de graphène

I.5.2 Les nanotubes de carbone multi feuillets ou multi parois (MWCNTs)

Un nanotube de carbone multi feuillets est constitué de plusieurs feuillets de graphène enroulés les uns autour des autres. Il existe deux modèles pour décrire la structure des nanotubes multi feuillets.

- Le modèle poupée russe: les plans de graphène sont arrangés en cylindres concentriques.
- Le modèle parchemin: un seul feuillet de graphène est enroulé sur lui même, comme une feuille de papier. [14]

Les NTCs conduisent l'électricité à cause du réseau étendu de liaison π qui court d'un bout à l'autre du tube. Ces liaisons sont très fortes dans le sens de la longueur du tube.

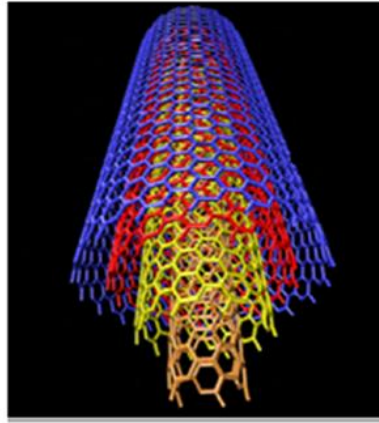


Figure I.5 : la structure géométrie de (MWCNTs)

I.6. Atorvastatine

L'atorvastatine (ATOR) est chimiquement (3R, 5R) -7- [2- (4-fluorophényl) -3-phényl-4 (phényl acide carbamoyl) -5-propan-2-ylpyrrol-1-yl] -3,5-dihydroxyheptanoïque. L'atorvastatine est un antilipidémiant et appartient à la classe de médicaments connue sous le nom de statines. C'est un inhibiteur de l'enzyme 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) réductase qui participe à la diminution du cholestérol endogène synthétiquement (3R,5R)-7-[2-(4-fluorophényl)-3-phényl-4-acide(phénylcarbamoyl)-5-propan-2-ylpyrrol-1-yl]-3,5 dihydroxyheptanoïque. [15] le médicament est une poudre cristalline blanche inodore et pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol.

I.7 Ramipril

Le ramipril (RAM) est un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACEI), qui est largement utilisé pour abaisser l'hypertension artérielle (hypertension), l'insuffisance cardiaque congestive et les problèmes rénaux [16], le RAM est un promédicament converti dans le foie par désestérification en sa forme active ramiprilate, qui inhibe l'ECA, bloquant ainsi la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II [17]. Cependant, une surdose de RAM peut provoquer une hypotension, une bradycardie et autres effets secondaires. [18]

I.8. Effet combiné d'ATOR et RAM

L'atorvastatine et le ramipril sont disponibles sur le marché en dose unique ou en association forment un antihypertenseur qui s'avère thérapeutiquement très efficace chez les patients cardiaques, Cette combinaison est largement utilisée en Inde sous le nom commercial Stator-R 5 [19].

La chimie analytique est la branche de la science qui utilise des technologies de pointe pour déterminer la composition de molécule par technique analytique. Nous pouvons atteindre à la fois de résultats qualitatif et quantitatifs.

I.9. Détermination simultanée d'ATOR et de RAM

Différentes techniques analytiques ont été appliquées pour la détermination individuelle ou simultanée de ces deux molécules dans les formulations pharmaceutiques et les fluides biologiques, y compris la spectrophotométrie [20], la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) [21], la méthode LC/MS/MS [22] et RP-HPLC [23]. Cependant, Certaines de ces méthodes manquent de spécificité et sont sujettes à des interférences, quelques-unes même ne sont pas adaptées à des échantillons colorés ou présentant des troubles. D'autres méthodes sont compliquées et nécessitent une durée longue pour l'analyse. Ainsi, il y a un besoin de développer des méthodes simples et rapides pour la détermination de l'OND en employant les techniques électrochimiques (voltammétrie cyclique, potentiométrie, ampérométrie), qui ont prouvé leur efficacité en chimie analytique. Ces méthodes sont moins coûteuses, sensible et sélective (mise en place d'électrodes modifiées).

I.10 Techniques électrochimiques

I.10.1 Voltammétrie cyclique

La voltammétrie cyclique (CV) est une méthode électrochimique basée sur la mesure du courant en fonction du potentiel appliqué à une électrode. Elle est considérée comme la plus universelle des méthodes électrochimiques, pouvant servir à la fois comme méthode d'élucidation de mécanismes de réaction ou comme technique analytique. Le principe de la technique consiste à faire varier linéairement le potentiel de l'électrode de travail entre deux limites [24] : le potentiel initial E_i et le potentiel final E_f , par un balayage aller-retour schématisé sur la Figure I.6 :

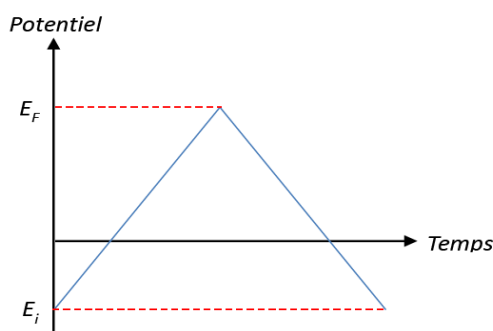


Figure I.6 : Evolution du potentiel en fonction du temps en voltammétrie cyclique.

Le voltammogramme obtenu (courbe intensité-potentiel) est caractérisé par plusieurs paramètres. Il donne un certain nombre d'informations sur le système étudié, par exemple le potentiel de demi-vague $E_{1/2}$ nous renseigne sur la nature de l'espèce électroactive, et le courant de diffusion sur la concentration et le nombre d'électrons échangés. Dans le cas d'un système réversible, un exemple de voltammogramme typique obtenu en CV avec les principales grandeurs caractéristiques est représenté sur la Figure I.7.

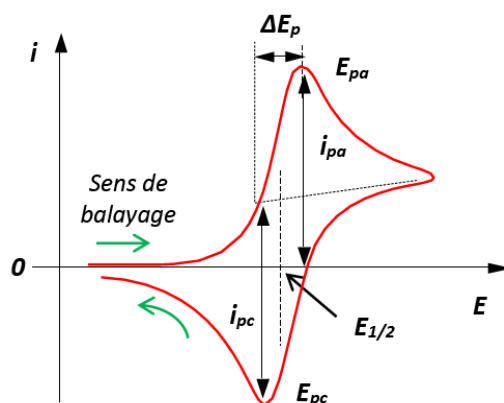


Figure I.7: Voltampérométrie pour un système réversible

Dans le cas d'un système réversible, les courants de pic i_{pa} et i_{pc} sont identiques, proportionnels à la concentration en espèce électroactive.

I.10.2 Voltammétrie différentielle à onde carrée

La voltampérométrie différentielle à onde carrée (SWV) est une technique électrochimique basée sur la combinaison d'un saut de potentiel, de hauteur ΔE_p et de durée Δt , à une onde carrée symétrique d'amplitude $|\Delta E_s|$ et de durée $2\Delta t$ en phase avec la fréquence des sauts de potentiel comme le montre la Figure I.8. [25]

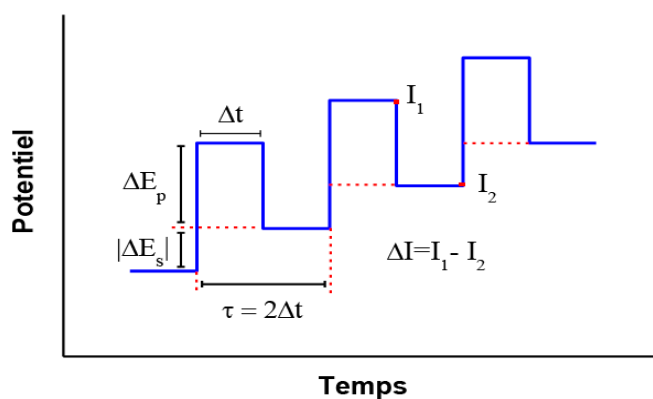


Figure I.8: Motif de potentiel appliqué à l'électrode pendant une analyse par SWV.

Le courant est mesuré au cours des dernières microsecondes de chaque impulsion, la différence entre le courant mesuré sur deux impulsions successives est enregistrée comme une réponse nette ($\Delta I = I_1 - I_2$), il est tracé en fonction du potentiel de la « marche d'escalier ». La courbe intensité-potentiel obtenue a l'allure d'une gaussienne comme le montre la Figure I.9.

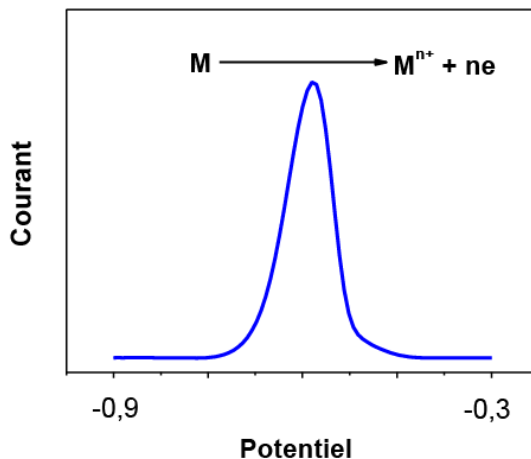


Figure I.9: Réponse en courant typique d'un voltammogramme à vague carrée.

L'intensité de courant du pic (I_p) est directement proportionnelle à la concentration des analytes correspondants, le potentiel de pic (E_p) correspond au potentiel de demi-vague observé en voltampérométrie classique. Le pas de potentiel ΔE_p , la période τ et l'amplitude de l'impulsion $|\Delta E_s|$ sont les trois paramètres susceptibles d'influencer la largeur et la hauteur du pic et par conséquent la résolution et la sensibilité de la méthode.

Partie

Expérimentales

II.1. Produits chimiques et appareillages utilisés

II.1.1. Produits chimiques

Les produits que nous avons utilisés dans notre étude sont listés dans le (**tableau II-1**) ci-dessous :

Tableau II-1: liste des produits utilisés dans la partie expérimentale.

Nom du produit	Formule brute	Producteur
Acide phosphorique	H ₃ PO ₄ 0.5 % (99%)	SIGMA
Acide acétique	CH ₃ COOH (99.5%)	SIGMA-ALDRICH
nanotubes de carbones multi-parois (MWCNT)	-	DropSens
Diméthylformamide (DMF)	HCO-N(CH ₃) ₂ (68%)	SIGMA
Acide borique	H ₃ BO ₃ (99.5%)	FULKA
Hydroxyde de sodium	NaOH (100%)	FULKA
Atorvastatine	C ₃₃ H ₃₅ FN ₂ O ₅ (100%)	
Ramipril	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₅ (100%)	

II.1.2. Appareillage et montage électrochimique

Toutes les expériences électrochimiques, sont basées sur le montage expérimental de la (**Figure II-1**) ce dernier est composé d'un Potentiostat /Galvanostat (modèle PGZ402 de marque Radiometeranalytical) piloté par logiciel VoltaMaster 4, et d'une cellule électrochimique constituée de trois électrodes.



Figure II.1 : photographie de la chaîne de mesures électrochimiques.

- **Cellule électrochimique**

Toutes les expériences électrochimiques sont réalisées dans une cellule électrochimique en verre, de volume 50 ml, à trois électrodes : une électrode de travail (ET), une électrode de référence (ER) et une contre-électrode (CE).

- **Electrode de référence (ER)** : les valeurs de potentiel sont mesurées par rapport à une électrode au calomel en solution aqueuse saturée en KCl (ECS; $E = 0.242 \text{ V /ENH}$ à 25°C).
- **Electrode auxiliaire (CE)** : ce type d'électrode utilisé tout au long des essais électrochimiques est un fil de platine. Le contact électrique est assuré par une pince métallique.
- **Electrode de travail (ET)**: l'électrode de travail qui sert comme support de dépôt est un disque de carbone vitreux (ECV) d'une surface 0.07 cm^2 .

II.2 Méthodes de Préparation des solutions :

II.2.1 Préparation de tampon Britton-Robinson (0.04 M)

Le tampon Britton-Robinson (BRB) de 0.04 M est préparé en mélangeant 2.94 mL d'acide phosphorique, 1.148 mL d'acide éthanóïque et 1.24g d'acide borique sont mélangés et complétés à 500 ml avec de l'eau distillée. Cinq solutions tampon de pH 2, 3, 4, 5 et 6 ont été préparées en ajustant la solution (BRB) par 5 N de NaOH à l'aide d'un pH-mètre (Inolab PH7310).

II.2.2 Préparation de la solution d'Atorvastatine (ATOR) et Ramipril (RAM)

Deux solutions de 1 mM ATOR et RAM ont été préparé. Pour ce faire, dans une fiole jaugée de 10 ml, on fait dissoudre une masse de 0.00558 g d'ATOR dans l'éthanol et 0.00416 g de RAM dans 10 ml d'eau distillée. Les solutions mères préparées sont ainsi conservé à température -4°C .

II.2.3 Prétraitement de l'échantillon de sérum

Les échantillons de sérum ont été préparés en mélangeant 0.5 ml de la solution d'ATOR et RAM ($1 \times 10^{-3} \text{ M}$) avec 3,6 ml de sérum humain et 5,4 ml d'acétonitrile Afin d'éliminer les résidus de protéines sériques, le mélange a été soumis aux ultrasons pendant 10 min et ensuite centrifugé (3000 tr / min) pendant 10 min. Le surnageant est ainsi récupéré et conservé à -

4°C. Des volumes appropriés du surnageant ont été dilués en utilisant l'électrolyte support sélectionné pour préparer différentes concentrations du mélange ATOR/RAM de 1 à 50 μM .

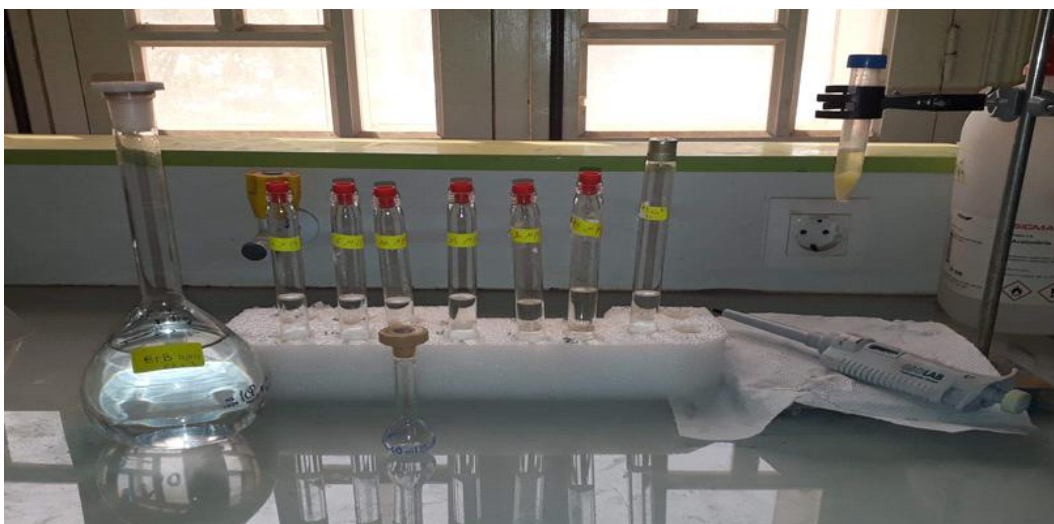
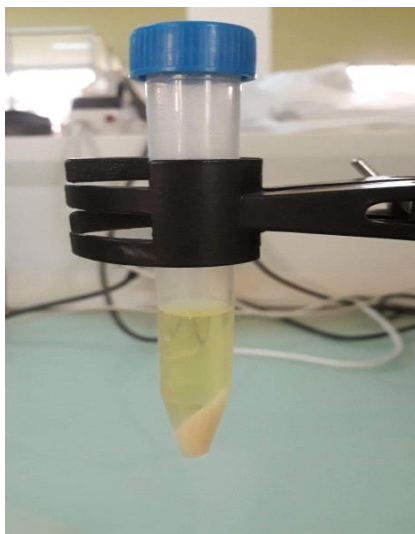


Figure II.2 : préparation de concentration d'ATOR et RAM (1 à 50 μM) dans le sérum humain

II.2.4 Préparation de l'électrode modifiée MWCNTs/ECV

La préparation de l'électrode modifiée MWCNTs/ECV est réalisée en dispersant les nanotubes de carbone multifeuillets sur la surface de l'ECV. Pour ce faire, une solution de NTC fonctionnalisée de concentration 1 mg mL^{-1} est dispersée à l'aide des ultrasons, un volume de 3 μL de la suspension résultante est déposé sur la surface de l'ECV. L'électrode modifiée est ensuite séchée pendant 5 à 10 minutes. La Figure II-3 résume l'ensemble des étapes suivies pour la modification de l'ECV avec les NTC.

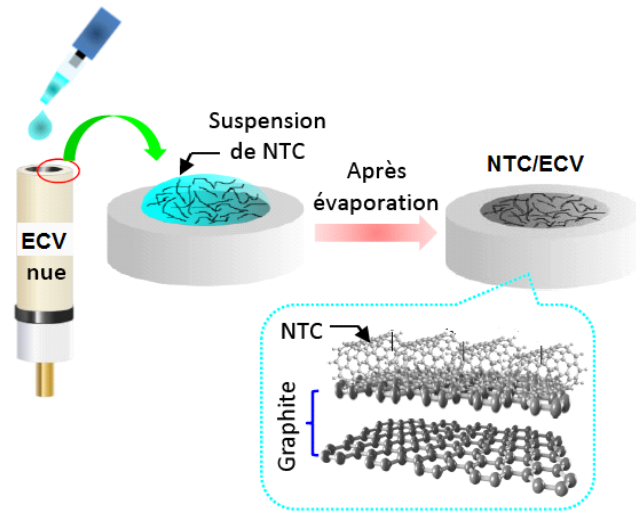


Figure II.3: Différentes étapes de la préparation de MWCNTs/ECV

Résultats et Discussion

II.2.4.1 Caractérisation par microscope électronique à balayage (MEB)

La morphologie de l'ECV et de l'électrode MWCNTs/ECV a été analysée par la microscopie électronique à balayage (MEB) Figure II-4.

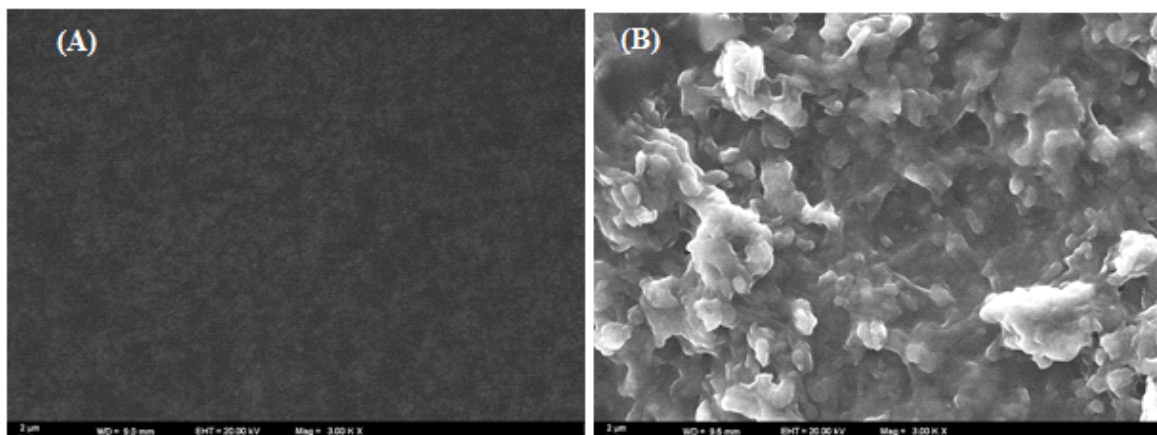


Figure II.4: Images MEB de (A) l'ECV nue et (B) MWCNTs/ECV.

Les images MEB montrent deux surfaces différentes. En effet, la surface de l'ECV a une morphologie plutôt lisse et homogène (Fig. II-4.A). (La Fig. II-4.B) montre la surface de l'ECV après sa modification avec les nanotubes de carbones multifeuilletés. Nous observons que les NTC ont été uniformément dispersés sur la surface de l'électrode en formant une structure tridimensionnelle poreuse. Cette morphologie offre une surface active plus importante que celle de l'ECV nue.

II.2.4.2. Caractérisation de l'électrode modifiée par la voltammétrie cyclique

La voltammétrie cyclique d'une espèce électro-active comme $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ est un excellent outil pour évaluer la cinétique électronique de l'interface d'une électrode.

Quand la surface d'une électrode est modifiée par l'addition des couches catalytiques, on peut examiner les changements du comportement de l'électrode à l'interface électrode/électrolyte en utilisant le ferrocyanure comme espèce électro-active et observer la cinétique de transfert électronique qui sera par conséquent perturbée.

La figure II-5 présente les voltammogrammes de l'électrode de ECV et MWCNTs. les mesures ont été effectués en présence de couple redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, avec une vitesse de balayage de 50 mV/s.

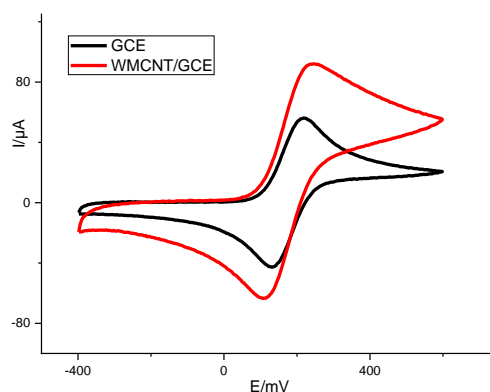


Figure II.5: Voltammogrammes de l'électrode ECV et MWCNT/ ECV. Mesures effectuées dans 5.0 mM de $K_3 [Fe(CN)_6] / K_4[Fe(CN)_6]$ dans le KCl (0.1 M) entre -0.4 et 0.6 V, avec une vitesse de balayage 50 mV/s .

Le voltammogramme correspondant à l'électrode non modifiée montre un faible signal où le potentiel d'oxydation est dans la gamme de 250 mV et celui de la réduction à 150 mV. La présence d'une couche de MWCNT entraîne une augmentation du courant correspondant aux pics d'oxydoréduction. En effet, cette couche favorise le transfert d'électron à l'interface de l'électrode de travail, donc elle augmente la conductivité du système d'où l'augmentation de la densité de transfert de charge. En plus, la présence de MWCNT permet d'augmenter la surface spécifique de l'électrode.

II.3 Facteur de rugosité de l'électrode MWCNT/ ECV

La rugosité de la surface obtenue pour les électrodes ECV et MWCNT/ ECV est présentée au tableau (II.2). Le facteur de rugosité (F_R) est calculé en divisant la valeur de la surface réelle obtenue des mesures voltammétriques par la surface géométrique (0.07 cm^2).

Les valeurs de surface réelle (A), montrées dans le tableau II-2 ont été estimées en utilisant l'équation suivante (Randles – Sevcik [26]):

$$I_p = 2.69 \cdot 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} \nu^{1/2} C_0 \quad \text{Eq. II.1}$$

Avec, I_p le courant de pic anodique, ν la vitesse de balayage (50 mV/s), n nombre d'électrons échangés ($n=1$), C_0 la concentration de $K_4Fe(CN)_6$ (5.0 mM), et D le coefficient de diffusion ($5.69 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$).

Tableau II-2 : La rugosité de la surface obtenue pour les électrodes ECV et MWCNT /ECV.

Electrode de travail	(A) Surface réelle (cm ²)	F _R
ECV	0.079	1.13
MWCNT/ ECV	0.128	1.82

Les résultats du tableau montrent que le changement du facteur de rugosité F_R est en accord avec la variation de l'activité électrocatalytique du système MWCNT/ ECV étudié par voltammétrie cyclique. Ainsi, plus la rugosité augmente plus l'électrode est performante à cause d'une surface active plus élevée.

II.4 Application à la détection simultanée de l'ATOR et du RAM

Après avoir caractérisé les différentes électrodes, nous allons tester ce type d'électrode comme capteur électrochimique pour l'analyse d'ATOR et RAM en utilisant la voltampérométrie différentielle à onde carrée (SWV) comme méthode de détection. Le choix de cette méthode réside dans le fait de sa haute sensibilité, un courant résiduel très faible, une répétabilité élevée, la possibilité de balayer le potentiel à des vitesses supérieures à 1000 mV s⁻¹ et donc une durée de mesure très courte.

La figure II-6 montre les voltammogrammes à vague carrée obtenus dans 0.1 M H₂SO₄ de pH 1.0 contenant le mélange des deux molécules étudiées à 0.1 mM.

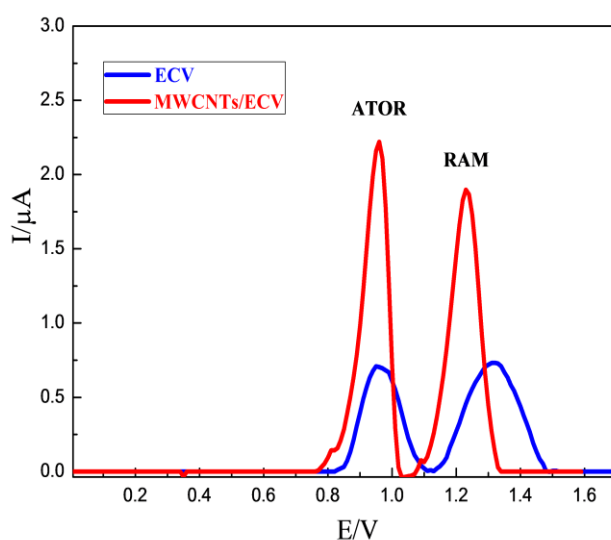


Figure. II.6 : Voltammogrammes à vague carrée obtenus dans une solution de 0.1 M H₂SO₄ contenant un mélange d'ATOR et RAM à 0.1 mM sur l'ECV (courbe bleu) et sur MWCNTs/ECV (courbe rouge).

Les voltammogrammes obtenus pour les différentes électrodes ont montré deux pics anodique positionné à un potentiel d'environ de 0.92 et 1.2 V avec une intensité du courant différente, ils correspondent respectivement à l'oxydation d'ATOR et RAM. L'ECV nue a montré une faible intensité du courant par rapport à l'électrode modifiée MWCNTs/ECV, cette faible réponse est principalement due à sa structure qui présente une surface moins active et un transfert électronique relativement faible. Cependant après sa modification par les NTC multifeuillets, le courant augmente de trois fois plus par rapport à l'ECV nue. En effet, les NTC multifeuillets fonctionnalisés offrent plus de surface active et un transfert électronique facile en raison de leurs structures.

II.5 Effet de la quantité des nanotubes de carbones multifeuillets

Les nanotubes de carbones multifeuillets sont des matériaux d'électrode idéale en raison de leur excellente conductivité électrique et leur grande surface spécifique. L'effet de la concentration de NTC multifeuillets à la surface de l'électrode sur la détection simultanée de l'ATOR et du RAM a été étudié en contrôlant la quantité déposée sur la surface de l'électrode. Pour ce faire, la surface de l'ECV est d'abord modifiée avec différentes volumes de NTC de concentration 1 mg.mL^{-1} . Les électrodes préparées sont ensuite utilisées pour la détermination de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ de l'ATOR et du RAM dans une solution de $0,1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ à pH 1.0. L'intensité du courant d'oxydation de l'ATOR et du RAM en fonction de la quantité de NTC sur l'ECV est représentée dans la Figure II-7.

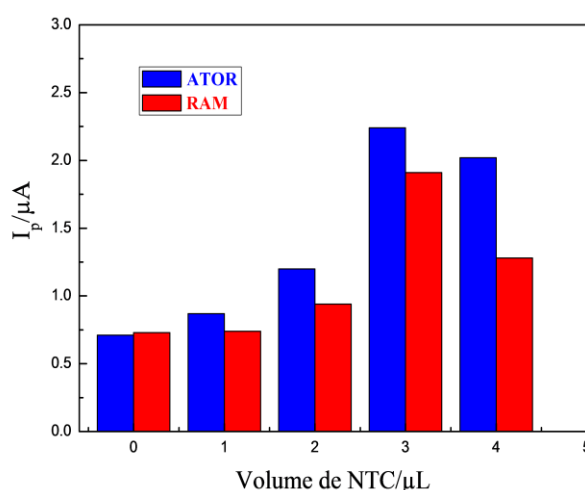


Figure II.7: Effet de la quantité de NTC multifeuillets sur la détection de $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ de l'ATOR et du RAM

L'intensité du pic de l'ATOR et du RAM augmente avec l'augmentation de la quantité de NTC, ce qui implique que les NTC entraînent une amélioration de la sensibilité de l'électrode.

Cependant, au-dessus d'une quantité de 3 μl en NTC l'intensité du courant diminue. En effet, une quantité trop élevée de NTC entraîne un courant résiduel important et un niveau de bruit élevé, ce qui est défavorable pour la détermination de l'ATOR et du RAM. Par conséquent, une quantité modérée de NTC de 3 μl a été choisie pour la fabrication de MWCNTs/ECV.

II.6 Effet du pH

Les solutions tampons ont été largement utilisées comme électrolyte support pour les plateformes de détection, du fait de leur capacité de fixer la valeur du pH. La Figure II-8 montre l'effet du pH sur l'intensité du courant de la détection de 1×10^{-4} M de l'ATOR et du RAM dans différents solutions tampons Britton-Robinson de pH allant de 2.0 à 8.0.

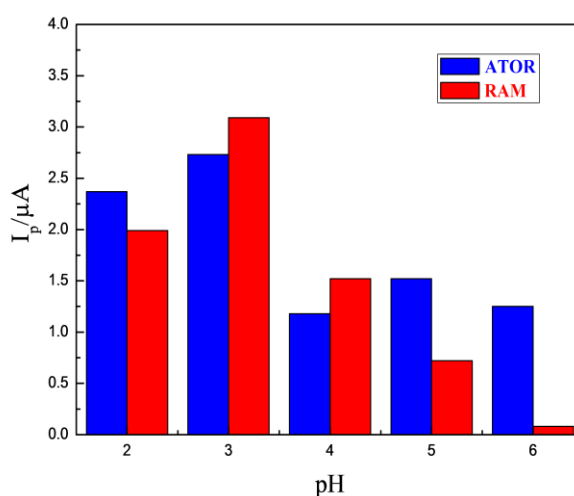


Figure II.8: Effet du pH de la solution tampon acétate sur la détermination de 1×10^{-4} M de l'ATOR et du RAM.

L'intensité du courant d'oxydation d'ATOR et RAM est fortement influencée par la valeur du pH de la solution tampon. De pH 2.0 à pH 3.0 l'intensité du courant augmente progressivement et le courant maximum est observé à pH 3.0. Au-dessus du pH 3.0, l'évolution de courant devient bruitée. Par conséquent, une solution tampon de pH 3,0 a été choisie comme électrolyte support pour les expériences qui vont suivre.

II.7 Courbes d'étalonnage et caractéristiques analytiques

Après avoir étudié et optimisé les différentes conditions expérimentales qui influent la détection simultanée de l'ATOR et du RAM, nous nous sommes ensuite intéressés à la détermination des caractéristiques analytiques de notre électrode en réalisant les courbes d'étalonnage. Ces dernières ont été élaborées en appliquant le MWCNTs/ECV pour la détermination de différentes concentrations de l'ATOR et du RAM en utilisant la voltammétrie à onde carré (SWV) dans les conditions expérimentales optimales décrites

précédemment. La Figure II-9 représente les voltammogrammes de la détermination simultanée de l'ATOR et du RAM, obtenus par ajouts successifs de quantité déterminée de l'ATOR et du RAM, dans une gamme de concentration allant de 10 à 100 μM .

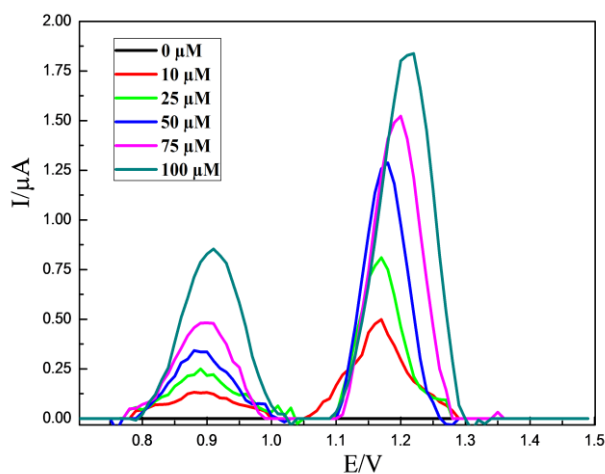


Figure II.9: Courbes de calibration de la détermination simultanée de l'ATOR et du RAM dans une gamme de concentration allant de 10 à 100 μM en utilisant MWCNTs/ECV.

L'intensité du pic anodique de l'ATOR et du RAM augmente avec l'augmentation de la concentration. La droite d'étalonnage résultante est représentée dans la Figure II-10, elle exprime l'intensité du courant d'oxydation de chaque élément en fonction de sa concentration dans le milieu.

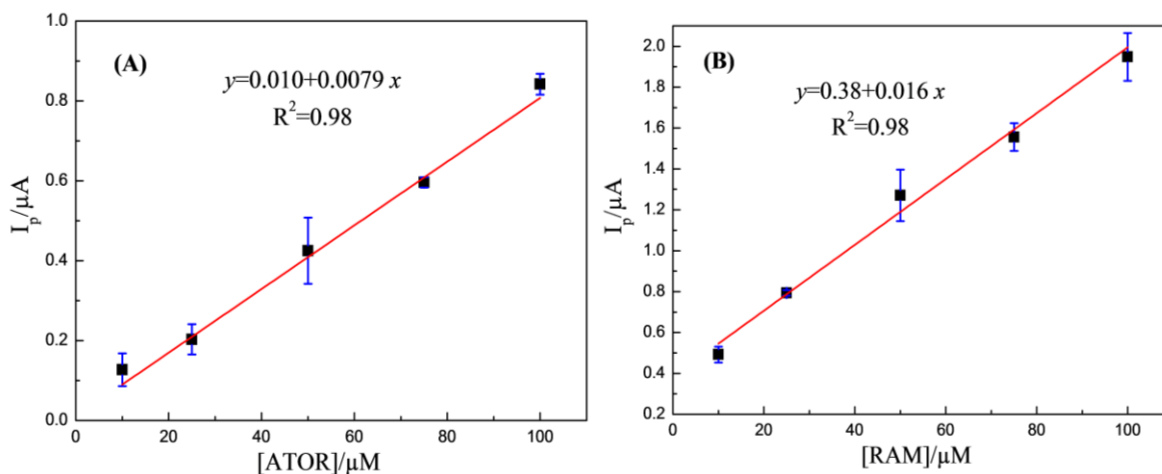


Figure II.10: Droite d'étalonnage résultante pour la détermination du : (A) ATOR (B) RAM, obtenus à une gamme de concentration allant de 10 à 100 μM

Comme on peut le remarquer, le courant augmente linéairement avec les faibles concentrations du l'ATOR et du RAM, ce qui donne les équations linéaires suivantes :

$$I_p (\text{ATOR}) = 0,0079C + 0,010, \text{ avec un coefficient de régression linéaire de } R^2 = 0,98$$

$$I_p (\text{RAM}) = 0,016 C + 0,38, \text{ avec un coefficient de régression linéaire de } R^2 = 0,98$$

La limite de détection (LOD) de l'ATOR et du RAM sont déterminés en appliquant l'équation décrite dans la section I.3.4 [27]. Ce qui donne une limite de détection de l'ATOR et du RAM respectivement de 2.57 et 1.87 μM .

Le tableau II-3 rassemble les performances analytiques du capteur issues de cette étude ainsi que celles obtenus par les méthodes chromatographiques et spectrométriques.

Même si les performances analytiques de MWCNT/ECV est moins bonnes que celles des méthodes chromatographiques et spectrométriques, ce capteur restent malgré tout intéressants de point de vue économique par rapport aux autres méthodes classiques. En effet, cette méthode électrochimique est plus simple à mettre en place par rapport aux autres méthodes qui nécessitent toutes l'utilisation de matériels coûteux et impliquent des protocoles opératoires compliqués avec des phases de prétraitement longues.

Tableau II-3. Comparaison des résultats obtenus par chromatographie, spectrométrie

Technique	Linéarité (μM)		LOD (μM)		Reference
	ATOR	RAM	ATOR	RAM	
HPLC	33.1-165	33.1-165	0.51	0.17	[28]
RP-HPLC	13.2-132.4	33.1-331	0.0095	0.014	[29]
HPLC	7.16-39.38	9.60-76.82	0.035	0.042	[30]
UV- Spectrometrie	3.58-17.90	2.40-12.0	0.823	0.672	[31]
SWV	10-100	10-100	2.57	1.87	Ce travail

II.8 Effet des interférences

Afin d'évaluer l'adaptabilité de notre méthode pour analyser une matrice complexe et d'identifier d'éventuels problèmes dus à la présence d'espèces interférentes électro-oxydables, nous avons étudié l'effet de certaines substances inorganiques (K^+ , Na^+ , NO_3^- et Cl^-) et organiques (glucose) sur la détection simultanée de l'ATOR et du RAM (Figure II-11) Comme le montre le tableau (II-4), le signal du nitrite est peu perturbé par la présence de fortes quantités de ces éléments ajoutés dans la solution de préconcentration. En effet, pour un rapport ($C_{\text{ATOR/RAM}} : C_{\text{interf}}$) égal à 1:100, la variation de la réponse de courant de l'ATOR et du RAM est inférieur à $\pm 10\%$.

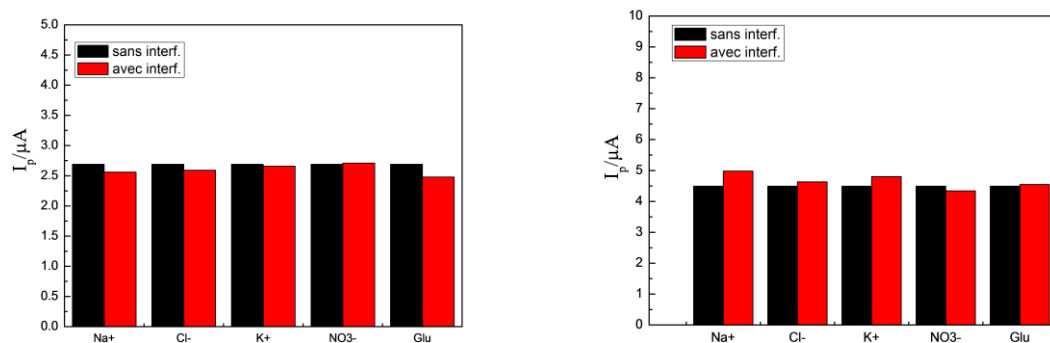


Figure II.11: Effet des espèces interférents sur la détection de 5×10^{-6} M du l'ATOR et du RAM.

Tableau II.4: la variation de la réponse de courant d'ATOR et RAM calcule du Bias.

Les éléments	± erreur	
	ATOR	RAM
Na^+	4.83	4.23
K^+	0.92	3.22
Cl^-	3.71	7.01
NO_3^-	0.74	3.34
Glucose	7.80	1.33

II.9. Dosage de l'ATOR et du RAM dans le sérum sanguin

Afin de tester l'applicabilité de notre capteur MWCNTs/ECV pour l'analyse simultanée de l'ATOR et du RAM dans les milieux biologiques (sérum sanguin). Les échantillons de sérum sont préparés et traités selon le mode opératoire décrit dans la section.

La figure II-12 représente les voltammogrammes à vague carrée enregistrées sur l'électrode MWCNTs/ECV en présence de différentes concentrations de l'ATOR et du RAM dans le milieu étudié. On constate que l'intensité du pic d'oxydation augmente graduellement avec l'augmentation progressive de la concentration de l'ADV dans les deux milieux biologiques.

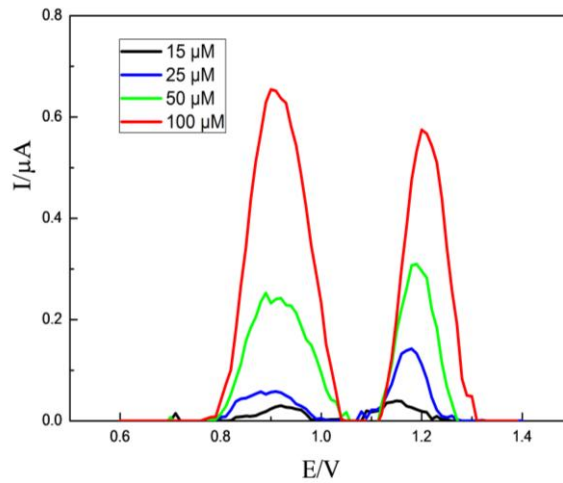


Figure II.12: Voltammogrammes à vague carrée obtenus sur l'électrode modifiée MWCNTs/ECV contenant des concentrations croissantes de (A) ATOR (B) RAM dans le sérum.

Les droites d'étalonnage résultantes expriment le courant du pic d'oxydation de l'ATOR et du RAM en fonction de leur concentration dans le sérum. Le courant augmente linéairement avec les faibles concentrations des deux molécules analysées. Le tableau II-5 résume les performances analytiques du MWCNTs/ECV dans le sérum humain.

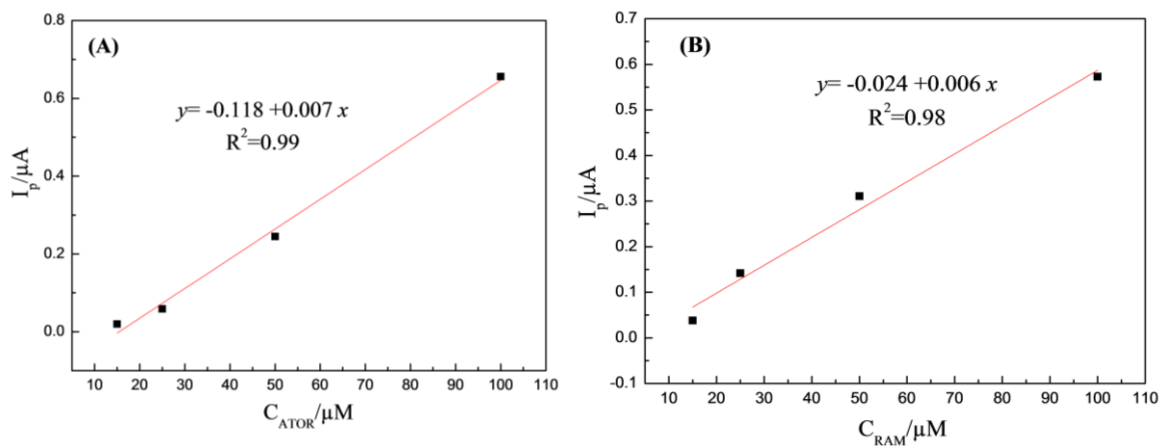


Figure II.13: Droite d'étalonnage résultante pour la détermination du : A) ATOR B) RAM, dans le sérum humain.

Tableau II-5: performances analytiques du MWCNTs/ECV pour la détection de l'ATOR et du RAM dans le sérum humain.

	sérum humain	
	ATOR	RAM
Pic de potentiel (V)	0.9	1.2
Linéarité (μM)	15-100	15-100
Sensibilité ($\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$)	0.007	0.006
SE of slope	4.8×10^{-4}	9.4×10^{-4}
Intercept (μA)	0.01	0.38
SE of intercept	0.03	0.02
Correlation coefficient (R^2)	0.99	0.98
LOD (μM)	2.57	1.87
LOQ (μM)	8.57	6.25

A l'issue de ces résultats nous pouvons conclure que la méthode proposée en utilisant l'électrode MWCNTs/ECV peut être appliquée pour la détection de l'ATOR et du RAM dans des milieux biologiques.

CONCLUSION

CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons montré l'intérêt d'une procédure électrochimique simple basée sur la déposition de films minces de nanotubes de carbone multifeuillets sur la surface de carbone vitreux (MWCNTs/ECV) pour l'élaboration d'un capteur électrochimique permettant la détection simultanée de l'atorvastatine (ATOR) et du ramipril (RAM). Le comportement électrochimique du MWCNTs/ECV vis-à-vis de l'oxydation de l'ATOR et du RAM a révélé qu'il possède d'excellente activité électrocatalytique par rapport à l'électrode non modifiée. En utilisant la voltammétrie à vague carrée (SWV) et sous les conditions expérimentales optimisées, le MWCNTs/ECV a montré de bonnes performances analytiques pour la détermination simultanée des deux molécules étudiées. Nous avons donc par ce travail, pu réaliser un capteur électrochimique peu coûteux, très simple à préparer, hautement sensible, reproductible et stable. Ce capteur a été utilisé avec succès pour la détermination simultanée de l'ATOR et du RAM dans les milieux biologiques (sérum humain) avec des résultats très satisfaisant.

Références

- [1] B.LZ CORREC, C.MONTELLA, J.-P. DIARD, *équilibre chimiques et électrochimiques en solution aqueuse*, 2004
- [2] ANH TUAN MAI, *Développement des biocapteurs électrochimiques a base de tyrosinase pour la détection des polluants organiques en phase aqueuse*, N° d'ordre : 194-2004-p18.
- [3] J. JANATA, *Conductometric Sensors, in Principles of Chemical Sensors*. 2009, Springer
- [4] M. DEBLIQUY, *Capteurs Chimiques*. Techniques de l'Ingénieur, (2010) 420
- [5] ph. Hubert, j.j. nguyen-huu b. Boulanger, e. Chapuzet, p. Chiap, n. Cohen, p.a. compagnon, w. Dewe, m. Feinberg, m. Lallier, m. Laurentie, n. Mercier, g. Muzard, c. Nivet, l. Commission sfstp « *validation des procédures analytiques quantitatives harmonisation des démarches partie 1* (2006)
- [6] FEINBERG. M -LABO-STAT - *Guide de validation des méthodes d'analyse; Lavoisier Edition Tec & Doc* 2009
- [7] *Note for guidance on validation of analytical procesures: text and methodology*. ICH Q2 (R1)
- [8] MICHEL LAURENTIC, groupe de travail “ GT Val 2” . *Guide de validation des méthodes d'analyses*. ANSES
- [9] R. A. Durst, A. J. Baumner, R. W. Murroy, R. P. Buck, C. P. Andrieuse, *Pure Appl. Chem.* 69(1997) 1317
- [10] K. ASADPOUR-ZEYNALI, F. MOLLARASOULI, *Biosens. Bioelectron.*, 92 (2017) 509-516
- [11] R F. LANE, et al.*Chem.*77(1973) 1401.
- [12] T. DURKOP, S.A. GETTY, E. COBAS AND M.S. FUHRER, *Extraordinary mobility in semiconducting carbon nanotubes*, *Nano Lett.* 4 (2004), pp. 35–39.
- [13] Deegan R.D., Bakajin O., Dupont T.F., Huber G., Nagel S.R., Witten T.A., *Nature*, 389 827-829 (1997)
- [14] IIJIMA, S, « *Helical Microtubules of Graphitic Carbon* », *Nature*(1991)
- [15] Chawla A Pooja, P. S., Monika. 9 (2019) 88

- [16] E. A. Taha, A. K. A., M. M. Fouad, and Z. M. Yousef, *Anal. Bioanal. Electrochem*, 11 (2019) 150
- [17] R. W. Piepho, *Am. J. Health-Syst. Pharm* (2000), pp. 57.
- [18] Arnold, J. M. O, Yusuf, S. Young, J. Mathew, J. Johnstone, D. Avezum, A. Lonn, E. Pogue, J. Bosch, J. *Circulation* 107 (2003) 1284.
- [19] Yogesh B. Zambare, S. R. K., C.C. Simpi, *Journal of Pharmacy Research Vol.2.Issue.* (27-02-2009),
- [20] Manisha B. Jadhav, S. S. S., Sachin R. Tajane, K.N.Tarkase, I. J. Pharma. . *Pharm.Sci* 4 (2012) 387.
- [21] Boyka G Tsvetkova, P. L. *J Chem Pharm Res.* 5 (2013) 168
- [22] S. Li, K. Peng, Z. Ma, X. Zhang , S. Fu, X. Li, Linlin; Li, A. H. a. J. J, *Molecules* 17 (2012) 2663.
- [23] Ramakrishna, C. V. a. K., *Rasayan journal chemistry* 8 (2015) 404.
- [24] E. Desimoni et al. « *Presenting Analytical Performances of Electrochemical Sensors. Some Suggestions* », *Electroanalysis*, vol. 25, no 7, p. 1645-1651, juill. 2013.
- [25] F. Scholz, *Voltammetric techniques of analysis: the essentials*, ChemTexts. 1 (2015) 1–24.
- [26] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Method: Fundamental and Applications*, second ed., Wiley, New York, 2001, pp. 231.
- [27] S.A. Ozkan, *Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and Their Validation*, HNB Publishing, NewYork, (2012).
- [28] S.M. Patole, L.V. Potale, L. Khodke, A. Damle, M, *Int J Pharm Sci Rev Res* 4 (2010) 40.
- [29] R. Sharma, S. Khanna, P. M.Ganesh *Journal of Chemistry* 9 (2011) 2177.
- [30] N. Gowda, R. Tekal, R. Thangavelu, *Journal of food and Drug analysis*, 20 (2012) 577.
- [31] A. Sankar, T. Vetrichevan, D. Venkappaya, *Acta Pharmaceutica* 61(2011) 283.

خلاصة: في هذه المذكرة، تم دراسة السلوك الكهروكيميائي لدواء الأتورفاستاتين (لعلاج ارتفاع الكوليسترول، ATOR) ودواء الرامبيرييل (لعلاج ارتفاع ضغط الدم، RAM) على قطب الكربون الزجاجي المعدل بالأنابيب النانوية الكربونية متعددة الجدران (GCE/MWCNTs). خلال هذه الدراسة تم تطوير تقنية كهروكيميائية بسيطة وحساسة للغاية من أجل التحليل الكمي المتزامن لأتورفاستاتين ورامبيرييل باستعمال طريقة قياس جهد-تيار ذو الإشارة المربعة (SWV) في محلول موقفي BRB (0.1 مول/ل و pH=3.0). أظهرت الدراسة ان عملية الاكسدة تتحكم فيها ظاهرة إمتزاز المركبين على سطح القطب المعدل. باستخدام البيانات المتحصل عليها ومناقشتها تم اقتراح آلية أكسدة المركبين التي تحدث على سطح القطب المعدل. التحليل الكهروكيمي باستخدام القطب المعدل أثبت نجاعة تحليلية عالية من ناحية الحساسية لهذين الدواءين ، حيث أظهرت الطريقة المقترحة استجابات خطية في مجال للتركيز تتراوح بين 10-100 ميكرومول/ل لـ ATOR و RAM مع كشف حدي (LOD) يساوي 2.57 و 1.87 ميكرومول/ل، على التوالي تم تطبيق المستشعر المقترح بنجاح للكشف الحساس والتحديد المتزامن لـ ATOR و RAM في عينات مصلى الدم البشري.

الكلمات المفتاحية: ، التحليل الكهروكيمي المتزامن للأتورفاستاتين والرامبيرييل ، القطب الكهربائي المعدل، الأنابيب النانوية الكربونية متعددة الجدران ، تقنية قياس جهد-تيار ذو الإشارة المربعة، عينات مصلى الدم البشري.

Résumé : Dans cette étude, le comportement électrochimique de l'atorvastatine (ATOR) et du Ramipril (RAM) a été étudié simultanément sur l'électrode de carbone vitreux (ECV) modifiée par les nanotubes de carbone multiparois (MWCNT). Une simple et très sensible technique a été développée pour la détermination simultanée d'ATOR et de RAM dans une solution BRB 0.1M (pH 3.0) en utilisant la voltammétrie à vague carrée (SWV). Le processus d'oxydation de l'ATOR et RAM sur l'électrode modifiée est principalement contrôlés par l'adsorption. Le mécanisme d'oxydation des deux médicaments a été proposé en utilisant les données obtenues et discuté. Par ailleurs, Les deux pics anodiques de l'ATOR et RAM sont séparés par une valeur de ~ 0.27 V, rendant le dosage simultané des deux espèces plus sélective. Dans les conditions optimales, la méthode proposée présente une partie linéaire comprise entre (10-100 μ M) pour les deux médicaments avec des limites de détection de 2.57 μ M pour ATOR et 1.87 μ M pour RAM, le capteur proposé a été appliqué avec succès pour la détection sensible et la détermination simultanée de l'ATOR et de la RAM dans des échantillons de sérum humains.

Mots clés : électrode modifiée, Atorvastatine et Ramipril, nanotubes de carbone multiparois, détection électrochimique, sérum humain.

Abstract: In this study, the electrochemical behavior of Atorvastatin (ATOR) and Ramipril (RAM) was investigated on multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) modified glassy carbon electrode (GCE) as simultaneously. A simple and highly sensitive square wave voltammetry (SWV) technique was developed for the simultaneous electrochemical determination of ATOR and RAM in 0.1M BRB solution (pH 3.0). The oxidation process of both analytes was found to be irreversible and exhibited mixed diffusion under adsorption-controlled process. The oxidation mechanism of drugs was proposed using the obtained data and discussed. The MWCNTs/GCE showed an enhancement effects on the oxidation current of ATOR and RAM with the significant peak potential differences of 0.27 V by SWV technique. At the optimum conditions, the proposed method exhibited linear responses in concentration ranges 10-100 μ M for ATOR and RAM with the detection limits of 2.57 and 1.87 μ M respectively. the proposed sensor was successfully applied for the sensitive detection and simultaneous determination of ATOR and RAM in human serum

Keywords: Modified electrode, Atorvastatin and Ramipril drugs; MWCNTs; Simultaneous electrochemical assay, human serum.