

ORIENTATIONS NOUVELLES DE L'ANALYSE ORGANIQUE FONCTIONNELLE

F. PELLERIN

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, France

ABSTRACT

Organic analytical chemistry is confronted with many problems: structural analysis of organic molecules, identification and titration of these compounds in manufactured products or in mixtures. This means that the analyst must choose the best means to solve his problems: here functional analysis is very useful. Many operating processes are presented that prove that functional analysis complements structural analysis, and this article exemplifies the contribution of instrumental methods. Thus potentiometry is applied for titrations in many solvents: concentrated saline solutions, aqueous phenol, periodimetric titrations in non-aqueous solvents, etc. Further, polarography facilitates settling problems in the study of the degradation of organic compounds or in trace detection (propiolactone). New methods of functional analysis make great use of organic reactions: colorimetric, u.v. and fluorimetric analysis, and enzymatic methods of analysis are all being developed for use in all fields of pure and applied analytical chemistry.

Il est incontestable que depuis bientôt 2 décennies, le développement de la chimie analytique s'est manifesté par son individualisation et sa participation dans tous les domaines de l'activité chimique. Individualisation sur le plan fondamental: elle s'est en effet différenciée des disciplines chimiques minérales et organiques; elle prend à la physique et à la chimie générale leurs notions fondamentales qu'elle exprime sous une forme personnalisée en vue de prévoir les réactions, les méthodes et leurs applications: elle choisit parmi les réactions chimiques, les mieux adaptées à son but: l'identification et le dosage des espèces chimiques et demande chaque jour davantage à l'instrumentation. Participation à tous les domaines d'activité chimique, tel est le deuxième volet de son activité: recherches de très haut niveau indispensables à son développement et débouchant à plus ou moins brève échéance sur des solutions et des applications nouvelles et également recherches orientées sur l'application immédiate aux multiples problèmes journaliers que les analystes ont à résoudre.

Sur un plan très général, les orientations de la chimie analytique et plus précisément de l'analyse organique fonctionnelle sont la conséquence d'une attitude et d'un choix, conditions de toute évolution ou de tout devenir au sens bergsonien du terme¹. L'attitude générale réside dans l'appui sur les acquisitions antérieures dont toutes les possibilités n'ont pas été explorées, la recherche de voies nouvelles avec un développement en éventail et non dans

une seule direction privilégiée et finalement le sens du service que la chimie analytique apporte à tous les domaines de l'activité chimique. Le choix se rapporte plus particulièrement à la recherche des moyens les mieux adaptés au but poursuivi: mettre à profit les énormes possibilités offertes par les méthodes physicochimiques d'analyse, les développer tout en n'abandonnant pas les méthodes traditionnelles qui gagnent chaque jour en perfection et en précision. Tels sont les critères qui doivent présider aux orientations et que nous allons tenter d'appliquer dans divers domaines où s'exerce le rôle de l'analyste.

1. STRUCTURE ET IDENTIFICATION DES COMPOSES ORGANIQUES

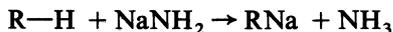
Analyse fonctionnelle, complément de l'analyse structurale

L'époque où l'organicien effectuait lui-même ses analyses est depuis longtemps révolue; il recourait alors à des extractions et purifications pénibles pour isoler l'espèce à l'état pur, à des procédés plus ou moins drastiques pour arriver à la structure de la molécule. On ne doit pas oublier les recherches qu'à suscitées la détermination de la structure des alcaloïdes ou des glucosides et on doit s'incliner devant le travail de patience, la minutie et la compétence des chimistes. Actuellement, l'isolement de l'espèce, à l'état pur est rapide grâce aux méthodes chromatographiques, en phase gazeuse notamment. L'analyse élémentaire à l'échelle microanalytique est entièrement ou presque automatisée.

La structure et la conformation des molécules organiques sont rapidement élucidées au moyen des méthodes spectrales d'analyse: spectrométrie de masse, résonance magnétique nucléaire apportent un concours aujourd'hui indispensable.

Les spectres dans l'infra-rouge constituent un excellent moyen d'identification des molécules organiques et l'on repère aisément les pics d'absorption correspondant aux groupements fonctionnels; il ne faut pas oublier toutefois que les longueurs d'onde caractéristiques sont sujettes à variation en fonction du reste de la molécule et que la position des pics et leur intensité peuvent être considérablement modifiés en fonction de cet environnement. Aussi, l'analyse fonctionnelle par voie chimique tiend une place complémentaire parfois indispensable, à côté des méthodes spectrales d'analyse.

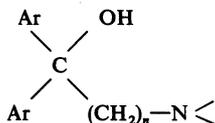
En solvant oxyde d'éthyle ou diméthylaniline, les composés à hydrogène mobile réagissent avec l'amidure de sodium selon la réaction:



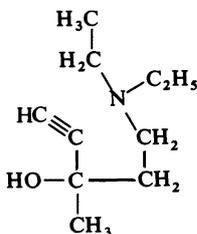
avec formation d'ammoniac en proportion stoechiométrique. L'ammoniac dégagé est dosé par acidimétrie. Avec un appareil très simple, le procédé de Miocque et Vierfond² permet de doser un grand nombre de composés appartenant à des familles chimiques variées: alcools primaires, secondaires, tertiaires, phénols, composés carbonylés, esters, amines, imides, amidines, acétyléniques et certains carbures.

Le procédé rend des services appréciables dans l'élaboration des structures;

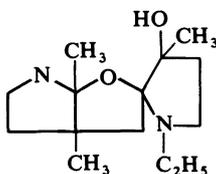
ORIENTATIONS NOUVELLES DE L'ANALYSE ORGANIQUE FONCTIONNELLE
ainsi dans des molécules du type :



la fonction alcool tertiaire est difficile à mettre en évidence à l'aide des procédés physiques; la bande OH n'est pas décelée dans l'infra-rouge; le spectre n.m.r. ne montre pas une différenciation nette du proton de l'hydroxyle et l'échange avec D₂O ne permet pas de clarifier la structure. En revanche, le procédé met en évidence l'hydrogène mobile et confirme ainsi la structure attendue. De même, l'éthynylation de la base de Mannich de la propanone donne naissance au méthyl-3 diéthylamino-5 pentyn-1 ol-3 (I); ce composé a été décrit par Micoque *et al.*³ qui ont précisé les modalités et le mécanisme de son altération rapide.



I

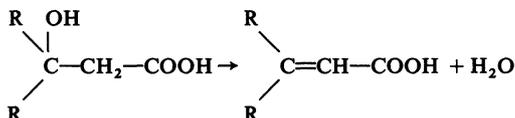


II

La mise en évidence d'un seul hydrogène mobile a introduit l'hypothèse de la duplication de la molécule avec perte de deux molécules d'éthylène; elle a permis ainsi de proposer la structure du composé (II) qui n'avait pas été résolue par i.r. et r.m.n. et qui s'est ensuite trouvée confirmée par les rayons X.

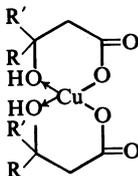
Pureté des composés organiques

Si la spectrométrie dans l'infra-rouge constitue un procédé de choix pour l'identification des molécules organiques, il n'en va pas de même pour apprécier la pureté des composés organiques: il est souvent nécessaire que l'impureté soit présente en quantité notable pour apparaître dans le spectre infra-rouge. Les acides alcools du type :



se transforment par perte d'une molécule d'eau en acide insaturé. Le pic d'absorption dans l'infra-rouge correspondant à la double liaison n'apparaît pour une teneur importante dont les réactions chimiques ont rendu compte. Par exemple, ces acides alcools forment un chelate cuivrique (III). Le pic

observé dans l'infra-rouge apparaît lorsque le déficit en chélate formé est déjà net^{4, 5}.



III

2. ANALYSE FONCTIONNELLE ET REACTIVITE DES MOLECULES ORGANIQUES: TITRAGES DANS LES MILIEUX VARIES

Envisagée sous l'angle des propriétés physiques physicochimiques ou chimiques d'un atome, un groupe d'atomes ou une partie de la molécule, la définition de l'analyse organique fonctionnelle englobe l'étude de la réactivité des molécules organiques. C'est en effet à partir de la réactivité que l'analyste fonde les méthodes d'identification et de dosage des fonctions et par leur intermédiaire de la molécule elle-même. Deux voies s'offrent à l'analyste: soit une intervention directe sur la fonction qu'il identifie ou qu'il dose à l'aide de moyens variés, soit une transformation préalable du groupement fonctionnel en un composé dont les propriétés sont utilisés à ces mêmes fins. Dans ce dernier cas, l'analyse fonctionnelle après transformation chimique aboutit dans tous les domaines d'application de la chimie analytique à des méthodes de dosage spécifique des composés organiques. C'est également à partir de l'étude de la réactivité des fonctions, de leurs imtérations ou leurs inhibitions réciproques dans la molécule et des réactions chimiques ou électrochimiques, que l'analyste peut prévoir les transformations des molécules, leur stabilité et participer ainsi à l'élaboration des conditions d'emploi. La connaissance de la réactivité prend, à titre d'exemple, une importance primordiale en chimie thérapeutique; la réactivité de la molécule sert de point de départ pour aborder l'étude des transformations et du métabolisme des médicaments, déterminer la biodisponibilité du médicament et élaborer les méthodes d'investigation des produits de transformation. L'analyste réalise cette étude de la réactivité à l'aide de moyens variés dont nous citerons quelques exemples: titrages dans des solvants variés, électrochimie des réactions organiques, recours aux méthodes spectrales.

La protométrie dans des solvants variés a pris un essor considérable depuis une vingtaine d'années. L'étude fondamentale du rôle du solvant: constante diélectrique, effet prototropique, facteurs d'acidité et de basicité, fonction d'acidité, a élargi considérablement ce concept même de couple acide-base. En chimie organique, l'électrochimie dans les solvants variés en pleine extension renseigne sur la cinétique ou le mécanisme des réactions chimiques et apporte des voies d'accès nouvelles aux molécules organiques. Dans la pratique de l'analyse, le choix judicieux du solvant ou de mélanges de solvants conduit à des applications multiples bien connues. Le nombre de solvants utilisables s'est multiplié et l'emploi du tétrahydrofurane, de la

méthylisobutylcétone au du diméthylsulfoxyde est devenu courant. De plus, les méthodes d'analyse fonctionnelle limitées à la protométrie dans des solvants autres que l'eau sont étendues maintenant aux titrages oxydiréductométriques ou au dosage par précipitation.

Protométrie dans le phénol aqueux

Réchercher un solvant présentant un pouvoir étendu de dissolution des composés organiques, une constante diélectrique faible tout en participant à l'échange du proton tel est le but recherché par Pellerin et Bayloq^{6,7}

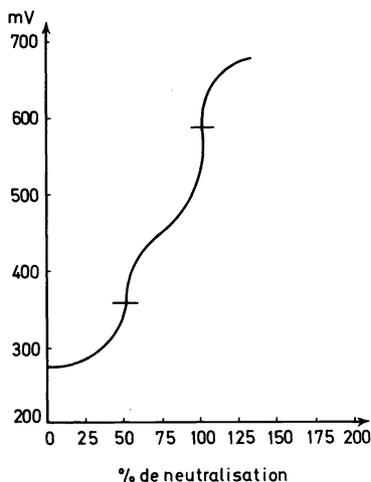


Figure 1. Titrage potentiométrique de la quinine dans le phénol aqueux.

s'adressant au phénol aqueux (90/10 p/p). L'étude de la constante diélectrique faible (15,5 à 27°) de ce solvant a montré qu'il est constitué par l'hémihydrate de phénol ($C_6H_5OH, \frac{1}{2}H_2O$) dans lequel l'eau est fortement liée.

Son domaine d'application à la protométrie des bases organiques est superposable à celui de l'acide acétique anhydre; en revanche, ce solvant

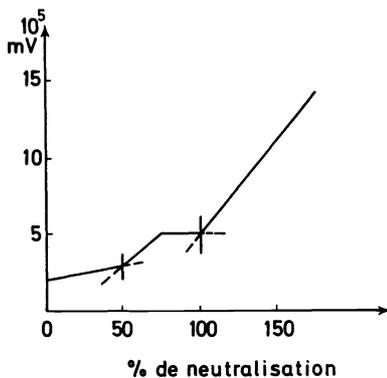


Figure 2. Titrage conductimétrique de la quinine dans le phénol aqueux.

permet le titrage différentiel par conductimétrie ou potentiométrie des bases organiques bifonctionnelles telles que la quinine ou la quinidine citées à titre d'exemples (*Figures 1 et 2*). Le titrage des chlorures de bases organiques est effectué après complexation par l'acétate mercurique, celui des sulfates après précipitation des ions SO_4^{2-} à l'état de sulfate de baryum. De plus, les titrages dans le phénol aqueux présentent l'avantage d'être applicable aisément à des solutions aqueuses de bases organiques ou de leurs sels dans la mesure où la teneur en eau ajoutée au solvant ne dépasse pas 10 p. 100.

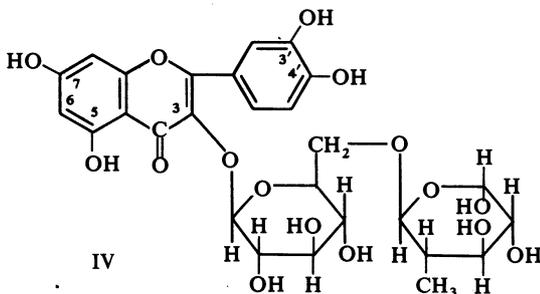
Oxydiréductimétrie dans des solvants variés

L'insolubilité de l'acide periodique et de ses sels alcalins en milieu organique limite l'utilisation de ces réactifs au dosage des substances hydrosolubles. Guernet et Espinassou⁸ ont décrit les periodates d'ammoniums quaternaires à longue chaîne (cétylpyridinium, cétyldiméthylbenzylammonium (CDMB) cétyltriméthylammonium) solubles dans l'acide acétique, les alcools et le chloroforme. Le schéma général d'oxydation periodique des α -diols en milieu non aqueux est identique à celui connu en solution aqueuse (mise en jeu de deux électrons par molécule d' α -diol). Toutefois, les vitesses d'oxydation sont différentes :

milieu aqueux glycol : primaire–secondaire > secondaire–secondaire
> primaire–primaire > tertiaire–tertiaire

milieu acétique glycol : primaire–primaire > primaire–secondaire
> secondaire–secondaire > tertiaire–tertiaire

en milieu acétique, la fonction alcool primaire paraît favoriser l'oxydation alors qu'en milieu aqueux la fonction alcool secondaire est plus facilement attaqué. L'étude de l'oxydation periodique en milieu non aqueux est ainsi appelée à rendre de nouveaux services dans l'analyse structurale des oses, osides et hétérosides et aussi des stéroïdes. Ainsi l' α -méthyl-D-glucose pyranoside⁹ réduit en milieu aqueux deux molécules d'acide periodique ; dans un premier stade, la rupture d'une liaison α -glycol conduit à un dialdéhyde puis dans un deuxième stade l'acide periodique réagit sur le dialdéhyde avec rupture de la liaison alcool secondaire–aldéhyde. En milieu éthanol–chloroforme, la réaction est limitée au premier stade et une molécule d' α -méthyl-D-glucose pyranoside réduit seulement une molécule d'acide periodique. Dans ce même milieu, trois des cinq fonctions α -glycol oxydables de la rutine (IV) réduisent l'acide periodique : une fonction dans chaque cycle pyranoside et la fonction *O*-diphénol.



Argentimétrie en solution saline concentrée

Critchfield et Johnson¹⁰ ont préconisé le titrage de bases organiques dans des solutions salines concentrées. Pellerin et Leroux^{11,12} ont étudié la formation des dérivés argentiques de la théophylline (V) et de la théobromine (VI) en solution concentrée et alcaline d'acétate de sodium à 50 p. 100 (p/v). L'isolement et l'analyse (u.v., i.r analyse élémentaire) des composés formés comme l'étude des courbes de titrage potentiométrique ont montré la formation de monothéophyllinate monoargentique (VII) et de dithéobrominate monoargentique (VIII). La forte concentration saline diminue le pouvoir dissociant du solvant et favorise la formation de complexe du type chelate; cette hypothèse est en accord avec les travaux de Lucas¹³ sur l'ionisation des molécules dissoutes en milieu salin concentré.

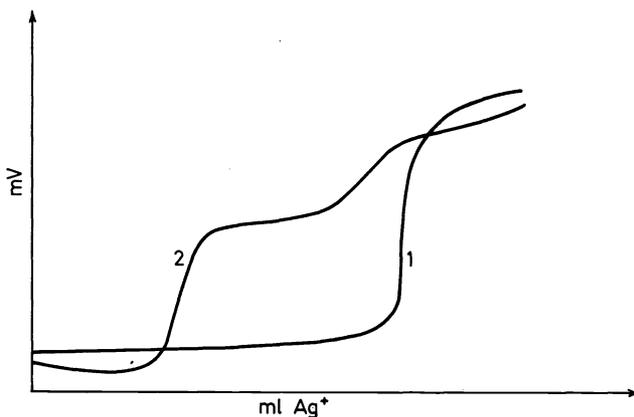
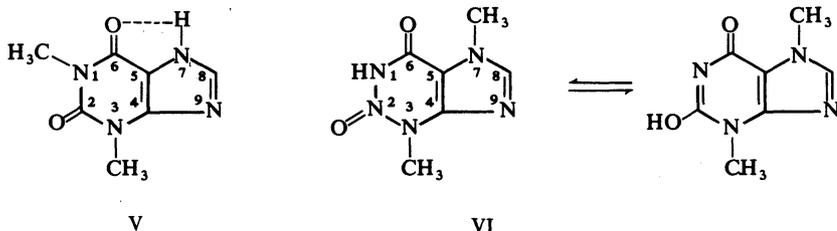


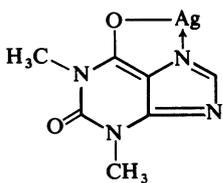
Figure 3. Argentimétrie de la théophylline (1) et de la théobromine (2) en milieu salin concentré.

L'interprétation du comportement différent des deux bases puriques, étayée par les résultats d'analyse, est liée à la structure des dérivés argentiques. Il paraît légitime d'admettre que la théophylline forme un chelate argentique intramoléculaire (VII) insoluble et relativement stable; cette formation ne peut être envisagée dans le cas de la théobromine; le composé (VIII) formé en milieu salin concentré est décomposé par dilution aqueuse avec formation de théobrominate monoargentique. Des résultats ont débouché sur un procédé de titrage des ces bases puriques¹² (Figure 3).

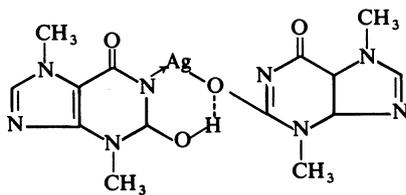


V

VI



VII



VIII

3. ANALYSE FONCTIONNELLE ET APPORT DES METHODES INSTRUMENTALES

Les méthodes électrochimiques fournissent des renseignements précieux pour l'analyste et concourent à élucider des mécanismes réactionnels ou à préciser la stabilité de molécules organiques.

Méthodes électrochimiques

Zuman a développé dans son ouvrage la polarographie des substances organiques: étude cinétique des réactions de décomposition, changements engendrés par des modifications de structure, influence des conditions inhérentes au milieu réactionnel. La polarographie de nombreux composés organiques notamment les bases puriques et pyrimidiques a été étudiée par Elving¹⁴. Pour notre part, nous avons appliqué la polarographie à l'étude de l'oxydation de diverses molécules à fonction hydrazide¹⁵.

Les hydrazides nicotinique et isonicotinique (IX) sont réduits en milieu alcalin sur l'électrode à goutte de mercure plus facilement que leurs *N*-oxydes respectifs; le potentiel de demi-vague de ces derniers est en effet plus négatif que celui des acides. Par oxydation permanganique, la formation transitoire de *N*-oxyde des hydrazides (X) nicotiniques, de l'iproniazide

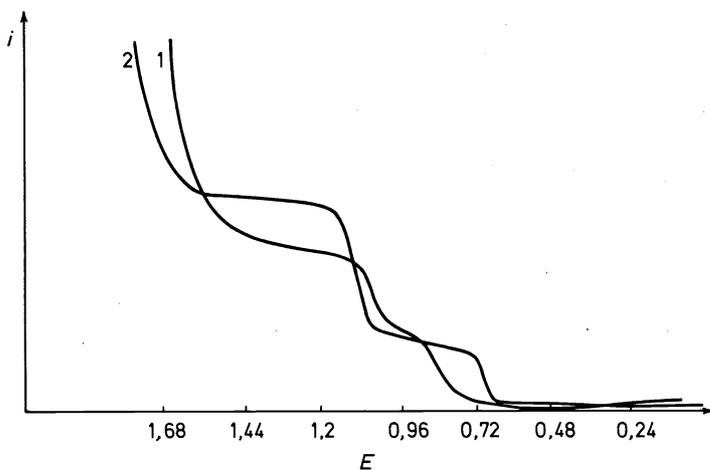


Figure 4. Polarographie de l'iproniazide (1) et de l'iproniazide *N*-oxyde (2) à pH 5.1.

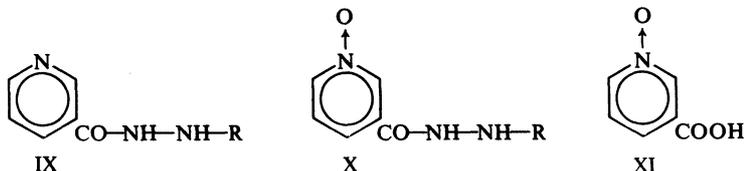
ORIENTATIONS NOUVELLES DE L'ANALYSE ORGANIQUE FONCTIONNELLE

Tableau 1. Potentiels de demi-vague à différents pH (électrode de référence Ag/AgCl)

	pH 2,4	pH 5,1	pH 8,8
Acide nicotinique	-1,05	—	-1,62
N-oxyde de l'acide nicotinique	-1,2	—	-1,704
	-0,84	—	
	-1,08		
	-1,26		
Acide isonicotinique	-0,852	-1,056	-1,380
N-oxyde de l'acide isonicotinique	-0,672	-1,056	-1,5
	-0,864		
Iproniazide	-0,624	-0,852	-1,236
	-0,858	-1,11	
N-oxyde de l'iproniazide	-0,522	-0,72	-0,96
	-0,828	-1,04	-1,296
Nialamide	-0,582	-0,852	-1,146
	-0,810	-1,068	-1,284
N-oxyde du nialamide	-0,816	-1,02	-1,284
		-1,290	-1,464
			-1,764
	pH11,8		
Hydrazide nicotinique	-1,836		
N-oxyde de l'hydrazide nicotinique	-1,356		
	-1,524		
	-1,860		
Amide nicotinique	-1,74		
N-oxyde de l'amide nicotinique	-1,530		
	-1,740		

et du nialamide a été mise en évidence, après isolement et dissolution en solution tampon, par polarographie. Les potentiels de demi-vague des composés obtenus (Tableau 1) en fonction du pH diffèrent de ceux des N-oxydes, des acides nicotinique ou isonicotinique ainsi que de deux des composés originels (Figure 4). Ces résultats ont été confirmés par détermination des spectres d'absorption dans l'infra-rouge qui diffèrent de ceux des N-oxydes des acides nicotinique ou isonicotinique et présentent en plus de la bande d'absorption vers 1280-1310 cm⁻¹ caractéristique de la fonction N-oxyde, une bande supplémentaire vers 1650 cm⁻¹.

L'ensemble des résultats confirme le schéma suivant de l'oxydation permanganique des dérivés pyridiniques à fonction hydrazide :

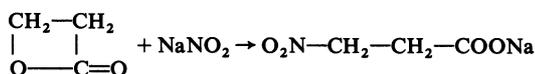


Hydrazide nicotinique : Substitution en 3 : R = -H
 Iproniazide : Substitution en 4 : R = -CH(CH₃)₂
 Isoniazide : Substitution en 4 : R = -H
 Nialamide : Substitution en 4 :



Polarographie de l'acide nitropropionique

La propiolactone est un agent alkylant utilisé dans de nombreuses réactions de synthèse organique et de polymérisation. Ses propriétés ont conduit à l'employer comme agent de stérilisation de greffes ou de plasma humain ou de dénaturation des protéines bactériennes et virales. Elles sont également responsables de son action irritante, cytotoxique et des propriétés cancérogènes lui ont été reconnues. La détection de traces s'avère indispensable et peut être résolue par polarographie du nitropropionate de sodium formé sous l'action du nitrite de sodium :



La réduction sur l'électrode à goutte de mercure permet d'observer en milieu alcalin les deux vagues de réduction caractéristiques des dérivés nitrés.



Dans le cas de la propiolactone Pellerin et Letavernier^{16,17} ont constaté que la deuxième vague de faible hauteur apparaît à partir de pH 7,5 et que la mesure du $E_{\frac{1}{2}}$ (-0,48 à pH 7,5) et de la hauteur de la première vague (Figure 5) permettent de déceler et de doser des traces de propiolactone de l'ordre de 10 μg par ml (10 p.p.m.)

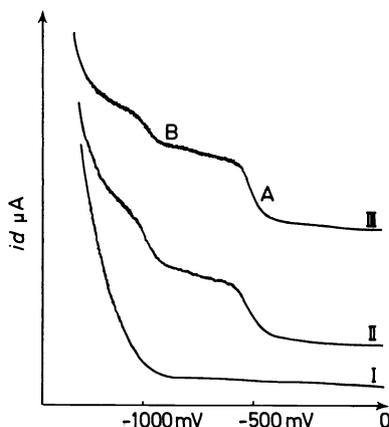


Figure 5. Réduction polarographique du nitropropionate de sodium: I, NaNO_2 ; II, propiolactone après réaction avec NaNO_2 (pH 7,5); III, nitropropionate de Na (pH 8) (A) $\text{R}-\text{NO}_2 \rightarrow \text{R}-\text{NHOH}$, (B) $\text{R}-\text{NHOH} \rightarrow \text{R}-\text{NH}_2$.

Méthodes spectrales d'analyse fonctionnelle

Une réaction chimique pratiquée au niveau d'une fonction donne accès à une structure responsable d'une absorption dans le visible, l'ultraviolet ou d'une fluorescence.

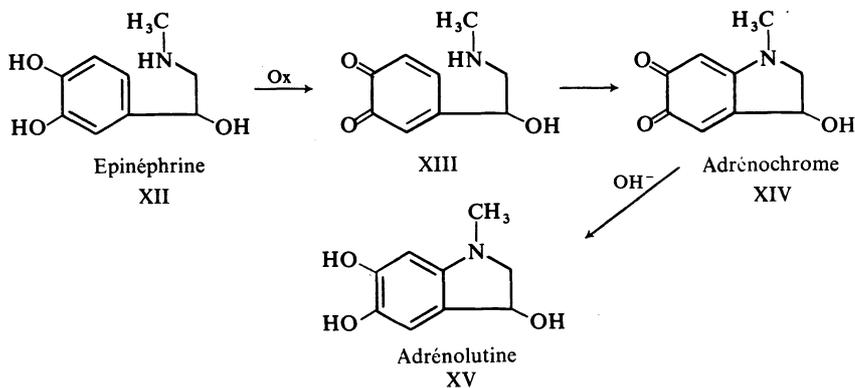
Spectrophotométrie dans le visible et l'ultraviolet

L'application analytique de nouvelles réactions des groupements fonctionnels, aboutit à des composés colorés, ou bien de nouveaux réactifs colorés ou non se condensent quantitativement avec la fonction à doser ; c'est ainsi que Poirier, Pesze et Bartos¹⁸ ont proposé ces dernières années un grand nombre de méthodes colorimétriques fondées sur des réactions chimiques dont le mécanisme est connu et qui se substituent avantageusement aux réactions empiriques autrefois utilisées avec plus ou moins de précision et de fidélité. Avec les méthodes colorimétriques, l'analyse fonctionnelle gagne en sensibilité et en spécificité ; il est de plus nécessaire étant donné les nombreuses interférences rencontrées de disposer pour chaque fonction d'un nombre relativement important de réactions permettant à l'analyste de choisir celle qui convient dans un cas particulier.

L'introduction dans une molécule de groupements fonctionnels chromophores ou d'auxochromes par réaction chimique conduit à des composés présentant de nouvelles conjugaisons $\pi-\pi$ ou $n-\pi$. La transformation en composés absorbant ainsi dans l'ultraviolet peut être rendue spécifique.

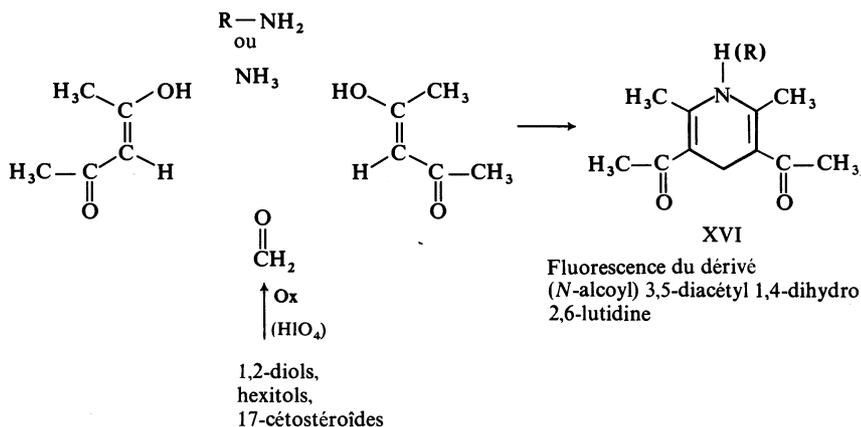
Fluorescimétrie

Certains composés non fluorescents peuvent à l'aide d'une réaction chimique convenable former un dérivé fluorescent par hétérocyclisation à l'oxygène ou à l'azote, par exemple¹⁹ (XII à XV) :

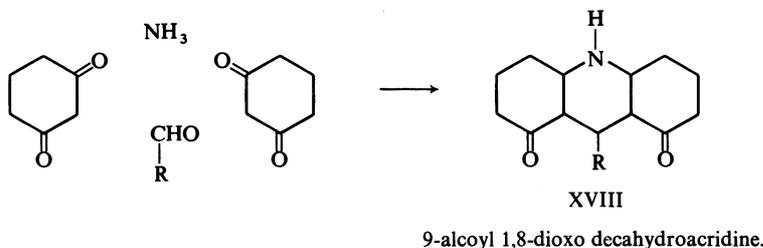


La réaction de Hantzsch qui conduit aux dérivés de la dihydropyridine par action du formaldéhyde et de l'ammoniac sur les β -dicétones et esters β -dicétoniques illustre particulièrement les multiples possibilités d'application des réactions des fonctions à des méthodes spectrophotométriques dans le visible et l'ultraviolet ou fluorescimétriques. Ainsi avec l'acétylacétate d'éthyle ou la pentanedione-2,4, la réaction développe une fluorescence bleue (XVI) pratiquement sélective du formaldéhyde et des composés qui donnent du formaldéhyde par réaction chimique tels que les diols-1,2, les hexitols, les α aminoalcools primaires, les cetol-17 stéroïdes^{20, 21}. En remplaçant dans la réaction avec la pentanedione-2,4 et le formaldéhyde,

l'ammoniac par une alkylamine primaire qui apporte l'azote hétérocyclique, la fluorescence jaune des *N*-alcoyl diacétyl-3,5 dihydro-1,4 lutidines (XVI) formées autorise le dosage de traces (1 à 10 µg) d'alkylamines primaires d' α -amino-acides ou de nitriles aliphatiques préalablement réduits en amine primaire par le borohydrure de sodium en milieu alcalin et en présence de palladium.



Les aldéhydes aliphatiques remplaçant le formaldéhyde, forment avec la cyclohexanedione-1,3 (dihydrorésorcinol) ou la dimédone des dérivés alcoyl-9 dioxo-1,8 decahydroacridines (XVIII) dont la spectrofluorimétrie est à l'échelle de 0,2 à 3 µg. Cette réaction est applicable au dosage fluorimétrique des pentoses deshydratés en furfural²¹ ou des alcoyls oxydés en aldéhydes²².



4. EFFICACITE DE L'ANALYSE ORGANIQUE FONCTIONNELLE

Dans tous les domaines d'application, les problèmes qui se posent à l'analyste englobent à la fois, le choix des méthodes en fonction du renseignement et de la précision attendus du résultat, comme la justification du plein emploi des appareils, et éventuellement l'automatisation des méthodes.

En analyse fonctionnelle, le choix des moyens implique une formation d'organicien; plier les réactions de la chimie organique aux servitudes de

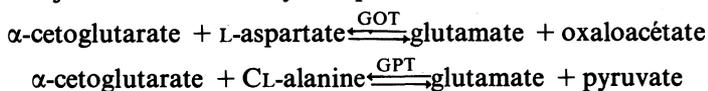
l'analyse constitue une orientation des recherches fondamentales de l'analyse fonctionnelle propre à fonder de nouvelles méthodes physiques, instrumentales ou chimiques d'analyse. La recherche et le choix de méthodes sélectives ou même spécifiques permet parfois de réduire les opérations d'extraction ou d'isolement du composé à doser. Parmi les orientations récentes de l'analyse fonctionnelle deux d'entre elles sont en plein développement; l'automatisation des méthodes chimiques d'analyse et l'analyse enzymatique mettent en évidence l'omniprésence de l'analyse fonctionnelle et sa participation à tous les domaines de l'activité chimique.

Automatisation des méthodes

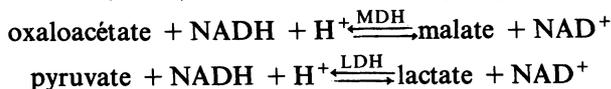
Nous ne nous étendrons pas sur ce sujet^{23, 24} et rappellerons seulement que l'analyste doit tenir compte en développant de nouvelles méthodes de dosage de la possibilité de leur automatisation. En fait ce n'est pas tant l'automatisation de la méthode analytique même qui pose des problèmes difficiles à résoudre, mais ce sont surtout l'introduction automatique de l'échantillon et le traitement des données obtenues. Les méthodes électrochimiques et spectrophotométriques d'analyse fonctionnelle se prêtent aisément à l'automatisation. Si l'on a besoin d'une méthode analytique automatique afin de contrôler un procédé chimique d'une façon plus ou moins continue, il faut tenir compte de la dynamique de ce procédé, c'est-à-dire qu'un procédé d'une variabilité rapide exige une méthode analytique d'un temps mort limité d'une courte durée. En tout cas l'aptitude de l'appareil analytique à suivre dans le temps les variations de la grandeur à mesurer doit être adéquate. Cela veut dire que le chimiste analyste est obligé d'étudier le temps de réponse de sa méthode analytique par comparaison avec la dynamique du procédé chimique à contrôler.

Analyse fonctionnelle et méthodes d'analyse enzymatiques

L'analyse fonctionnelle offre de multiples possibilités d'étude des réactions enzymatiques et d'applications au dosage des enzymes ou des substrats qu'elles attaquent. Les procédés reposent sur la réaction de l'enzyme sur le substrat avec formation d'un composé qu'une réaction chimique transforme en un dérivé absorbant dans le visible ou l'ultraviolet ou doué de propriétés électrochimiques. Ainsi les transaminases glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT) et glutamate-pyruvate transaminase (GPT) mettent en jeu les réactions enzymatiques :

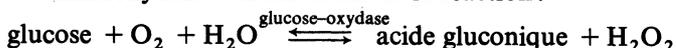


Le dosage peut être réalisé par colorimétrie des dinitro-2,4 phénylhydrazones²⁵; les deux réactions peuvent être également couplées avec une deuxième réaction enzymatique de réduction des oxaloacétate et pyruvate en présence de nicotinamide-adenine-dinucléotide réduit (NADH) et respectivement de malate (MDH) et lactate (LDH) deshydrogénases



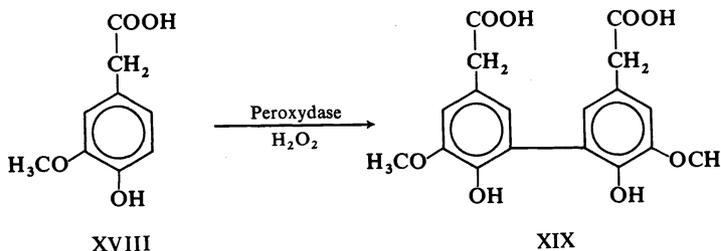
Cette réaction indicatrice, en présence de la deshydrogénase appropriée permet le dosage soit des transaminases par mesure cinétique de la variation d'absorption du NADH dans l'ultraviolet²⁶, soit de nombreux acides organiques, le NADH formé réduisant la resazurine en un composé fluorescent²¹.

La formation du peroxyde d'hydrogène sous l'action d'oxydases appropriées est appliquée au dosage de substrats variés : glucose/glucose-oxydase, xanthine, hypoxanthine/xanthine-oxydase, benzylamine, thyramine, histamine/monoamineoxydase²⁸. Dans le cas de la réaction :



le finissage de la réaction peut être effectué selon plusieurs modalités.

Le peroxyde d'hydrogène en présence de peroxydase oxyde l'orthodanisidine en un composé dont l'intensité de coloration est proportionnelle à la concentration en glucose; de même l'oxydation par le système peroxyde d'hydrogène-peroxydase de l'acide homovanillique (XVIII)²⁹ selon la réaction :



autorise le dosage fluorescimétrique (XIX) du glucose ou de divers osides engendrant le glucose³⁰. La réaction glucose/glucose-oxydase peut être suivie par électrochimie au moyen d'une électrode à enzyme de Clark^{31,32} dans laquelle la glucose-oxydase et la catalase sont immobilisées dans un gel de polyamide³³ ou dans un support protéique; la vitesse d'apparition et de dégradation du peroxyde d'hydrogène est mesurée par polarographie ou par la diminution de la p_{O_2} ; de tels procédés sont applicables au dosage du glucose en continu dans les liquides biologiques^{34,35}. L'emploi d'électrodes à galactosidase, à urate oxydase, fonctionnant sur le même principe permet le dosage du galactose et de l'acide urique.

CONCLUSION

Les exemples cités montrent que des voies nouvelles s'offrent ainsi à l'analyse organique fonctionnelle qui peut apporter notamment avec la fluorescimétrie des procédés applicables au dosage de traces de produits formés au cours des réactions, ou avec les méthodes électrochimiques qui permettent de suivre la cinétique d'une réaction enzymatique sans modifier la composition du milieu.

Si l'on considère l'évolution de la chimie analytique, il ne faut pas oublier que cette discipline demeure une science appliquée dépendante des autres domaines de l'activité chimique qui font appel à ses services. L'analyste se trouve ainsi confronté à de multiples problèmes allant de l'analyse structurale des molécules à leur identification et leur dosage dans des produits manufacturés ou des mélanges de composition complexe. Il doit ainsi s'adapter aux problèmes à résoudre en choisissant les moyens les plus convenables. Sous cet aspect, l'analyse organique fonctionnelle continue de se développer et j'ai tenté de montrer dans cet exposé que son orientation bénéficie de l'apport de nouvelles réactions de la chimie organique étudiées à des fins analytiques, comme de l'apport des méthodes instrumentales d'analyse.

Son développement sans être spectaculaire est continu et elle assure ainsi un service efficace dans tous les domaines de l'activité chimique.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ F. Pellerin, *Actualités de Chimie analytique*, 20ème Série. Masson : Paris (1971).
- ² M. Mioque, J. M. Vierfond et A. Reynet, *Talanta*, **17**, 423 (1970).
- ³ M. Mioque, T. Duchon D'Engenieres, J. Maldonado et N. Kunesch, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2413 (1972).
- ⁴ F. Pellerin, *Gyogyszczeszlet*, **14**, 128 (1970).
- ⁵ F. Pellerin, *Prod. Problèmes Pharm.* **22**, 16 (1967).
- ⁶ D. Baylocq, *Thèse Doct. Pharmacie*, Paris XI (1973).
- ⁷ F. Pellerin et D. Baylocq, *Ann. Pharm. Fr.* **29**, 306 (1971) et à paraître.
- ⁸ M. Guernet et E. Espinassou, *Analisis*, **2**, 348 (1973).
- ⁹ M. Guernet, E. Espinassou et M. Hamon, *Ann. Pharm. Fr.* **31**, 343 (1973).
- ¹⁰ F. E. Critchfield et J. B. Johnson, *Anal. Chem.* **30**, 1247 (1958).
- ¹¹ F. Pellerin et D. Leroux, *Ann. Pharm. Fr.* **29**, 153 (1971).
- ¹² D. Leroux, *Thèse Doct. Pharmacie*, Paris (1969).
- ¹³ M. Lucas, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2767 (1966); 3842 (1967); 4300 (1968).
- ¹⁴ P. Elving, *J. Electrochem. Soc.* **110**, 160, 225 (1963).
- ¹⁵ F. Pellerin et H. El Makkawi, *Ann. Pharm. Fr.* **29**, 421 (1971); **30**, 187 (1972).
- ¹⁶ F. Pellerin et J. F. Letavernier, *Ann. Pharm. Fr.* **29**, 444 (1971) et à paraître.
- ¹⁷ J. F. Letavernier, *Thèse Doct. Pharmacie*, Paris V (1973).
- ¹⁸ P. Poirier, M. Pesez et J. Bartos, *Pratique de l'Analyse Organique Colorimétrique*. Masson : Paris (1966).
- ¹⁹ A. Lund, *Acta Pharmacol. Toxicol.* **5**, 75, 1218 (1949).
- ²⁰ E. Sawicki et R. A. Carnes, *Microchim. Acta*, 602 (1968).
- ²¹ M. Pesez et J. Bartos, *Talanta*, **14**, 1097 (1967); **16**, 331 (1969); **19**, 93 (1972).
- ²² M. Pesez et J. Bartos, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2333 (1963).
- ²³ E. A. M. F. Dahmen, *Mises au Point de Chimie Analytique*, 18ème Série. Masson : Paris (1969).
- ²⁴ J. Pastor, *Actualités de Chimie Analytique*. 20ème Série. Masson : Paris (1971).
- ²⁵ S. Reitman et S. Frankel, *Amer. J. Clin. Path.* **28**, 56 (1957).
- ²⁶ Deutsche-Gesellschaft für Klinische Chemie, *Z. Chem. Klin. Biochem.*
- ²⁷ G. C. Guilbaut, S. H. Sadar et R. Mc. Queen, *Anal. Chim. Acta*, **45**, 1 (1969).
- ²⁸ G. C. Guilbaut, D. N. Kramer et E. Hackley, *Anal. Chem.* **39**, 271 (1967).
- ²⁹ G. C. Guilbaut, P. J. Brignac et M. Juneau, *Anal. Chem.* **40**, 1256 (1968).
- ³⁰ G. C. Guilbaut, P. Brignac et M. Juneau, *Anal. Chem.* **40**, 1256 (1968).
- ³¹ L. C. Clark Jr, *Proc. Int. Union Physiol.* **9** (1971).
- ³² W. J. Blaedel et C. L. Olson, *Anal. Chem.* **36**, 343 (1964).
- ³³ G. C. Guilbaut et F. R. Shu, *Anal. Chim. Acta*, **60**, 254 (1972).
- ³⁴ G. Broun, H. Malandain et F. Pellerin, à paraître.
- ³⁵ H. Malandain, *Thèse Doct. Pharmacie*, Université de Rouen (1973).