

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB -BLIDA 1-



FACULTÉ DE MÉDECINE  
EL MAHDI SI AHMED  
DÉPARTEMENT DE PHARMACIE



Thèse d'exercice de fin d'étude

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Septembre 2022

*Les impuretés dans les médicaments :*  
*Aspect réglementaire et méthodes d'analyses*

*Présentée par:*

- ✓ **BENAISSA Ibrahim**
- ✓ **BENTCHIKOU Mohamed Nour**
- ✓ **BENAZIZA Sofiane**

*Encadrée par :*

- ✓ **Dr.BELAIDIF** : Maitre assistante en chimie analytique.

**Devant le jury :**

- ✓ **Dr.BENGHEZAL I** : Maitre assistant en biophysique **-président-**
- ✓ **Dr.AZZOUZ L** : Maitre assistante en chimie analytique **-examinatrice-**



## REMERCIEMENT

Nos remerciements s'adressent d'abord à **ALLAH** le tout Puissant et le Miséricordieux et à son prophète **MOHAMED** (ﷺ) pour les chances qui nous ont été offertes dans l'intention de réaliser ce travail, pour nous avoir donné la santé, la volonté et la patience afin de surmonter toutes les difficultés de ce mémoire.

Nous tenons par la suite à remercier **Dr. BELAIDI F.** en sa qualité d'encadreuse.

Nous vous remercions d'avoir accepté de diriger notre thèse, pour votre disponibilité, vos conseils, votre soutien et surtout votre patience pendant la réalisation de ce mémoire. Nous vous sommes sincèrement reconnaissants. Nos remerciements s'adressent au président du jury **Dr. BENGHEZAL** ainsi qu'au membre du jury **Dr. AZZOUZ** de l'intérêt et du temps qu'ils nous ont accordé en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous remercions également l'ensemble de l'équipe de l'unité de chimie de l'**ANPP** et plus particulièrement **Dr. CHADOULI M. R.** et Mme **ADEM H.** pour leurs accueil et aide au niveau de l'agence afin de faire notre partie pratique. On tient aussi à remercier la Chef du département de Pharmacie à l'Université de Blida **Pr. BENAZIZ O.** et tous le personnel du département pour leur soutien inestimable.

On remercie également **Pr. ABDI S.** et toute l'équipe pédagogique (maîtres assistant et personnel) de Laboratoire Centrale et la Pharmacie Centrale de CHU Frantz Fanon pour avoir assuré le bon déroulement de notre internat.

A tous nos enseignants depuis la première année, qui nous ont donné le bagage nécessaire pour faire ce mémoire, qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

## Dédicaces

*Je dédie ce travail*

*À ma très chère mère, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices. Sa bienveillance me guide et sa présence à mes côtés a toujours été ma source de force.*

*À mon très cher père, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordé.*

*À mon très cher frère Abdeshak pour son soutien, sa femme Imene et leurs enfants Mehdi et Nesia source de joie et bonheur.*

*À mes chers cousins Abdou et Walid*

*À mes chers binômes Benaïssa Ibrahim et Benaziza Sofiane*

*À mes chers amis Sid Ahmed, Racim, Amine, Abdellah, Farid  
et Walid*

*Et à tous qui me sont chers.*

BENTCHIKOU Mohamed N.

*Je tiens en premier lieu à remercier **Dieu** tout puissant pour la volonté, la santé et le courage qu'il m'a donné pour suivre mes études et de choisir un métier aussi noble.*

*Pour les deux premières personnes qui me viennent à l'esprit et qui se sont efforcées à faire de moi ce que je suis en ce moment même, restent sans contestation, **mes chers parents** :*

*C'est à vous que je me mets à genou pour vous dire un grand merci que dieu vous garde pour moi et me donne l'opportunité de vous rendre le bien inchallah.*

*A ma très chère sœur **Dayaa** qui était toujours un soutien dans ma vie.*

*A mes très chers frères **Islem** et **Billel** et ma petite sœur **Hadjer** que dieu vous protège, Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*Au reste de ma famille, et spécialement mon oncle **Noureddine** pour leur soutien, et leur encouragement.*

*A mes chers frères et binôme : **Sofiane et Mohamed***

*Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères et des amies sur qui je peux compter.*

*Ce travail reflète de la bonne ambiance qui a toujours régné entre nous.*

*Merci pour les bons moments que nous avons passés ensemble pendant toutes ces années d'études.*

*A ceux qui m'ont donné la chance d'apprendre, qui m'ont ouvert de nouveaux horizons, à Mme **S.BENDAOU**, et le pharmacien **M.STAMBOULI** et son équipe officinale.*

*A tous ceux qui me sont chers, A mes amis :*

***Seddik, Mohammed, Malek, Mourad, Mehdi et Riadh***

*A tous mes amies et mes camarades de promotion*

*A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études*

*A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail*

*Je vous aime toutes et tous*

*Que le Tout Puissant vous bénisse et vous garde.*

**BENAISSA Ibrahim**

A ma **Maman** d'amour, celle qui m'arrosé de tendresse et d'espoir, celle qui a attendu avec patience le fruit de sa bonne éducation, la femme qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureux, sa bienveillance m'a tellement guidée.

Mon cher **Papa**, celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions.

Votre présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles, Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection. Je vous aime.

A mon bras droit **Abderrazak** qui n'a pas cessé de me conseiller, de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études et à chaque étape de ma vie. ILU

Mes deux petit frères **Abdelwahab** et **Billel** qui m'ont accompagné à leur manière spéciale durant ces années, vous êtes une bénédiction incomparable.

Ainsi que mes adorables petites sœurs **Maroua** et **Besma** qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur

Ma **famille maternelle**, mes grands-parents, mes oncles (Djamel, Samir et Abdelaziz) et mes tantes (Yasmina, Salima et ses belles filles) qui me sont très chers pour leur soutien, leur amour, leur aide...

Merci, sans eux je ne serais rien aujourd'hui là.

A tous les membres de ma **famille paternelle**, mes cousins et cousines, toute personne portant le nom **BENAZIZA**, et mon grand-père Babasidou (رحمه الله) qui voulait tellement me voir dans cette position.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements et ma gratitude à Mme. **HASNAOUI Amina** et son mari **LAICHI Hassan** pour l'expérience qui me l'ont attribué au sein de son officine depuis ma 2eme année, Merci.

Je ne peux pas clore cette liste sans citer mes chers amis Badreddine, Ishak, Mohamed... et tous ceux qui sont chers, proches de mon cœur, et ceux qui m'aiment et qu'auraient voulu partager ma joie, et tous mes collègues du Club WeMed qui m'ont accompagné au cours de mon cursus universitaire je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

Sans oublier mon trinôme **Ibrahim** et **Mohamed** auxquels c'était un plaisir de travailler avec eux depuis mon premier jour au département de Pharmacie, les remercier pour les plus beaux moments qu'on a eus ensemble, ainsi les obstacles qu'on a surmontés, leurs patiences et compréhensions... Rabi Yahfadkom.

Ce mémoire de fin d'étude représente donc l'aboutissement du soutien et des encouragements que tout ce monde m'a prodigué tout au long de ma scolarité

Sofiane.

## Table des matières

---

<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>I</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>II</b>
<b>ABREVIATION.....</b>	<b>III</b>
<b>LISTE DES UNITES.....</b>	<b>IV</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>

### **PARTIE THEORIQUE**

<b>CHAPITRE I: GENERALITES SUR LES IMPURETES DANS LES PRODUITS PHARMACEUTIQUES .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1 Définition des impuretés : .....</b>	<b>5</b>
<b>I.2 Classification des impuretés : .....</b>	<b>7</b>
I.2.1 Les impuretés organiques : .....	8
I.2.1.1 Définition des impuretés organiques : .....	8
I.2.1.2 l'origine des impuretés organiques : .....	9
I.2.1.3 Classification des impuretés organiques : .....	9
I.2.2 Les solvants résiduels : .....	12
I.2.2.1 Définition des solvants : .....	12
I.2.2.2 Les origines des solvants résiduels dans les médicaments : .....	13
I.2.2.3 Classification des solvants résiduels:.....	15
I.2.3 Les impuretés inorganiques (élémentaires) : .....	18
I.2.3.1 Définition des impuretés élémentaires : .....	18
I.2.3.2 Classification des impuretés élémentaires : .....	18
<b>CHAPITRE II: NOTION DE TOXICITE.....</b>	<b>22</b>
<b>II.1 Les impuretés organiques :.....</b>	<b>23</b>
II.1.2 Les seuils relatifs aux impuretés organiques : .....	26
II.1.3 impuretés organiques et leurs effets toxiques : .....	26
<b>II.2 Les solvants résiduels: .....</b>	<b>28</b>
II.2.1 Les limites des solvants résiduels : .....	30
□ Les solvants de classe 1 : .....	30
□ Les solvants de classe 2 : .....	31
<b>II.3 Les impuretés inorganiques : .....</b>	<b>32</b>

II.3.1 Classe 1 : .....	32
II.3.2. Classe 2 : .....	35
II.3.2.1 Classe 2A : .....	36
II.3.2.2 Classe 2B : .....	38
II.3.3 Classe 3 : .....	40
<b>CHAPITRE III : ASPECT REGLEMENTAIRE.....</b>	<b>42</b>
<b>III.1 La Pharmacopée Européenne : .....</b>	<b>44</b>
III.1.1 Prescriptions réglementaires concernant les impuretés : .....	44
<b>III.2 La Conférence internationale sur l'harmonisation l'ICH : .....</b>	<b>51</b>
III.2.1 L'évolution de l'ICH : .....	51
III.2.2 ICH guideline et directives : .....	52
III.2.3 La directive Q3B : .....	54
III.2.3.1 Déclaration du contenu des produits de dégradation des lots: .....	54
III.2.3.2 Enumération des produits de dégradation dans les spécifications: .....	55
III.2.4.2 Qualification des produits de dégradation : .....	56
<b>CHAPITRE IV: METHODES ANALYTIQUES APPLIQUEES AUX ESSAIS DES IMPURETES .....</b>	<b>58</b>
<b>IV.1 Méthodes chromatographiques : .....</b>	<b>60</b>
IV.1.1 Chromatographie à haute performance HPLC : .....	61
IV.1.2 Chromatographie sur couche mince CCM : .....	64
IV.1. 3 Chromatographie en phase gazeuse (GC) : .....	66
IV.1. 4 Evolution des techniques analytiques chromatographique au cours des éditions de la Ph.Eur : 72	
<b>IV.2 Méthodes spectroscopiques : .....</b>	<b>73</b>
<b>IV.2.1. Spectrométrie d'Absorption Atomique : .....</b>	<b>74</b>
<b>IV.3 Méthodes analytiques instrumentales basées sur l'ICP : .....</b>	<b>79</b>
IV.3. 1 La spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) : .....	80
IV.3.2 La spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) : [56, 57] .....	82
<b>PARTIE PRATIQUE</b>	
<b>I. Terrain de stage : .....</b>	<b>86</b>
<b>II. Problématique : .....</b>	<b>87</b>



<b>III.Les produits étudiés</b> :.....	<b>87</b>
<b>III.1 DESOGESTREL (Principe actif)</b> :.....	<b>87</b>
III.1 .1.Dosage de 3-keto-desogestrel et 3-hydroxy-desogestrel dans le Desogestrel(PA) :.....	88
<b>III.2 Produit X</b> : .....	<b>104</b>
III.2.1 Dosage de l'éthanol dans le produit X :.....	104
<b>Bibliographie</b> .....	<b>116</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>122</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : Diagramme montre les équipements et le composant utilisés dans la production d'un produit pharmaceutique .....	6
<b>Figure 02</b> : Schéma de la classification des impuretés .....	8
<b>Figure 03</b> : structure chimique du 4-aminophénole.....	10
<b>Figure 04</b> : éthylation 17-oxostéroïdes avec 3 réactions secondaires.....	11
<b>Figure 05</b> : Groupement tosyle .....	12
<b>Figure 06</b> : Emplois usuels des solvants dans l'industrie [10].....	14
<b>Figure 07</b> : Classification des 24 impuretés élémentaires selon la directive ICHQ3D.....	18
<b>Figure 08</b> : Classification des IE selon la directive Q3D de L'ICH. ....	20
<b>Figure 09</b> : Classification des IE selon la directive l'EMEA.....	21
<b>Figure 10</b> : Comparaison des champs d'application des lignes directrices/guides réglementaires pour la gestion des impuretés dans les produits pharmaceutiques [34].....	43
<b>Figure 11</b> : Les spécifications d'un nouveau produit selon la directive Q3B de l'ICH.....	55
<b>Figure 12</b> : Arbre de décision pour l'identification et la qualification d'un produit de dégradation. ....	57
<b>Figure 13</b> : Schéma des essais des impuretés . ....	59
<b>Figure 14</b> : L'expérience de base en chromatographie. a) Les ingrédients nécessaires C, colonne, PS, phase stationnaire, PM, phase mobile et E, échantillon ; b), le dépôt de l'échantillon ; c) le début de l'élution ; d) la récupération des produits après séparation.....	60
<b>Figure 15</b> : Les différents composés d'un appareil HPLC.....	62
<b>Figure 16</b> : Schéma illustrant une colonne d'un HPLC .....	63
<b>Figure 17</b> : Schéma illustrant une chromatographie sur couche mince CCM .....	65
<b>Figure 18</b> : Schéma d'un appareil de CPG .....	67
<b>Figure 19</b> : Schéma d'un injecteur [49] .....	68
<b>Figure 20</b> : Schéma (en coupe) d'une colonne remplie (à gauche) et d'une colonne capillaire (à droite) [49]. ....	69
<b>Figure 21</b> : Détecteur à conductibilité thermique[44].....	70
<b>Figure 22</b> : Schéma du détecteur à ionisation de flamme (FID) [10] .....	71
<b>Figure 23</b> : Le spectre électromagnétique .....	73

<b>Figure 24</b> : Spectromètre d'absorption atomique .....	74
<b>Figure 25</b> : Schéma de principe du spectrophotomètre.....	75
<b>Figure 26</b> : L'appareillage en spectrométrie d'absorption atomique.....	76
<b>Figure 27</b> : Schéma et photo d'une lampe à cathode creuse .....	76
<b>Figure 28</b> : Schéma simplifié d'un bruleur .....	77
<b>Figure 29</b> : Schéma d'un four .....	77
<b>Figure 30</b> : Schéma simplifié d'un photomultiplicateur .....	78
<b>Figure 31</b> : Schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma à couplage inductif .....	79
<b>Figure 32</b> : Schéma du principe de fonctionnement de l'ICP-MS quadripolaire .....	81
<b>Figure 33</b> : Schéma de l'appareillage d'un ICP-AES .....	83
<b>Figure 34</b> : Siège de l'agence national des produits pharmaceutiques.....	86
<b>Figure 35</b> : Flacon contenant 1g de DESOGESTREL.....	87
<b>Figure 36</b> : Structure chimique du desogestrel .....	88
<b>Figure 37</b> : Désogestrel (PA) à examiner.....	89
<b>Figure 38</b> : HPLC utilisée dans le dosage de 3-kétdésogestrel et 3-hydroxydésogestrel .....	90
<b>Figure 40</b> : Solvant S 50R1/50R.....	93
<b>Figure 44</b> : Chromatographe obtenu avec la solution (1) .....	97
<b>Figure 45</b> : Chromatographe obtenu avec la solution (2) .....	98
<b>Figure 46</b> : Chromatographe obtenu avec la solution A .....	101
<b>Figure 47</b> : Chromatographe obtenu avec la solution B .....	102
<b>Figure 48</b> : Chromatographe obtenu avec la solution C .....	102
<b>Figure 49</b> : Chromatographie en phase gazeuse en espace de tête marque clarus 580 équipé d'un FID .....	105
<b>Figure 50</b> : Résultats numériques pour conformité de système .....	107
<b>Figure 51</b> : Chromatogramme de la solution 1 .....	108
<b>Figure 52</b> : Chromatogramme de la solution 2 .....	109

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : Solvants de classe 1 dans les produits à usage pharmaceutique solvant à éviter	15
<b>Tableau 02</b> : Solvants de classe 2 dans les produits à usage pharmaceutique [12]	16
<b>Tableau 03</b> : Solvants de classe 3 devant être limités par les BPF ou par d'autres exigences de qualité [12]	17
<b>Tableau 04</b> : Seuil pour les différents types d'impuretés pour les PA selon ICH Q3A R2	25
<b>Tableau 05</b> : Seuils pour les produits de dégradation dans les nouveaux produits médicamenteux.	25
<b>Tableau 06</b> : Certaines impuretés organiques et leurs effets toxiques	26
<b>Tableau 07</b> : Limites provisoires pour les impuretés NDMA et NDEA	28
<b>Tableau 08</b> : Solvants de classe 1(solvant à éviter) et leurs limites [12]	30
<b>Tableau 09</b> : Solvants de classe 2 et leurs limites [12]	31
<b>Tableau 10</b> : Toxicité du Cobalt	36
<b>Tableau 11</b> : Toxicité du Nickel	37
<b>Tableau 12</b> : Toxicité du Vanadium	37
<b>Tableau 13</b> : Toxicité des impuretés de class 2B	38
<b>Tableau 14</b> : Expositions journalières admissibles et les concentrations maximales autorisées pour [14]	41
<b>Tableau 15</b> : Déclaration, identification et qualification des impuretés organiques	46
<b>Tableau 16</b> : Exemple 01 d'application des options avec acétonitrile	49
<b>Tableau 17</b> : Exemple 02 d'application des options avec acétonitrile	49
<b>Tableau 18</b> : Tableau comparatif entre l'ICP-MS, l'ICP-AES, la F-AAS et la GF-AAS	84

## ABREVIATIONS

**ADN** : Acide désoxyribonucléique alimentaires et médicamenteux)

**AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché anciennement EMEA

**BPF** : Bonnes Pratiques de Fabrication

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CGL** : Chromatographie gaz-liquide

**CGS** : Chromatographie gaz-solide

**CIRC** : Centre international de recherche sur le cancer

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**CTD** : Common Technical Document

**DJA** : Dose journalière Acceptable

**EJA** : Exposition journalière admissible

**EMA** : European Medicines Agency (Agence Européenne du Médicament) -

**FDA** : Food and Drug Administration (en français, Agence américaine des produits

**FID** : détecteur à ionisation de flamme

**GC** : gas chromatography

**GC/MS** : Gas chromatography–mass spectrometry (en français, chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse)

**HPLC** : Chromatographie Liquide à Haute Performance

**ICH** : International Conference on Harmonization

**ICP** : Inductively Coupled Plasma ou Plasma par couplage inductif

**ICP-AES** : Spectrométrie d'Émission Atomique à Plasma à Couplage Inductif

**ICP-MS** : Spectroscopie de Masse à Plasma à Couplage Inductif

**IE** : Impureté élémentaire

**INRS** : Institut national de recherche et de sécurité

**LC** : chromatographie en phase liquide

**LC/MS** : chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de mass

**MedDRA** : Medical Dictionary pour les activités réglementaires

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PA** : Principe actif

**Ph Eur** : Pharmacopée européenne

**PISC** : Programme international sur la sécurité des substances chimiques

**QSEM** : Qualité Sécurité Efficacité Multidisciplinaire

**SAA** : Spectrométrie d'Absorption Atomique

**SEA** : spectrométrie d'émission atomique

**TCD** : Détecteur à conductibilité thermique

**TDI** : Tolerable Daily Intake (en français, dose journalière tolérable)

**UE** : Union européenne

**USP** : United States Pharmacopeia (en français, Pharmacopée américaine)

**UV** : Ultra-Violet

## Liste des unités

**%** : pourcent

**bar** : Unité de mesure de la pression

**cm** : Centimètre

**g** : Gramme

**Kg** : Kilogramme

**l** : Litre

**M** : Concentration molaire

**m** : Mètre

**µl** : Microlitre

**µm** : Micromètre

**mg** : Milligramme

**min** : Minute

**ml** : Millilitre

**mm** : Millimètre

**mol** : Mole

**nm** : Nanomètre

**Pa** : Pascale.

**ppm** : Partie par million.





## INTRODUCTION

Face aux enjeux éthiques, économiques et surtout de santé publique soulevés par les médicaments, ces derniers sont soumis à de nombreuses réglementations. A titre d'exemple, le Code de la santé publique algérienne (Loi n° 85-05 du 16 février 1985) définit un médicament comme étant " Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventive à égard des maladies humaines ou animale, et tous produit pouvant être administrés à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médicale ou de restaurer; corriger et modifier ses fonction organique."

Il existe également de nombreuses bonnes pratiques (clinique, fabrication, laboratoire, préparation, etc.) qui réglementent chaque étape de la vie du médicament, afin d'assurer le contrôle de ses trois notions élémentaires : **qualité, efficacité et sécurité**, qui sont des caractéristiques fondamentales et très importantes en pharmacothérapie, et qui permettent d'atteindre les différents objectifs fixés par le Code de la Santé Publique (CSP), à savoir : guérir, prévenir ou établir un diagnostic.

Les essais qui ont un impact direct sur ces attributs sont les essais d'identité, de dosage et de pureté. L'essai de pureté consiste à contrôler le profil d'impureté du médicament.

Par conséquent, les impuretés peuvent être le principal danger qui peut avoir un impact sur la toxicité du médicament, soit par contamination par des substances étrangères, soit par augmentation non maîtrisée de ses produits de dégradation. La mise en place de ces essais constitue un défi pour un laboratoire pharmaceutique qui doit fournir des moyens (matériels et méthodes) et posséder des compétences techniques pour maîtriser ces essais.

Donc l'objectif de ce travail est d'établir quelques essais sur les impuretés qui peuvent être présentes dans une substance active et aussi un produit pharmaceutique fini.

**La première partie** de cette thèse est une partie théorique consacrée à une étude bibliographique qui se divise en 4 chapitres :

**Le premier et le deuxième chapitre** présente une étude descriptive sur les différentes impuretés qui se trouvent dans les produits pharmaceutiques (définition, source, types), ainsi que leurs toxicités et normes qui gèrent leurs teneurs dans les médicaments respectivement.

**Le troisième chapitre** fait référence aux principaux chapitres et prescriptions réglementaires de la Pharmacopée Européenne, à savoir : « Substances pour usage pharmaceutique », « Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique », « Solvants résiduels », ainsi que les

différentes directives et guidelines de l'ICH (la conférence internationale sur l'harmonisation) utilisées pour l'évaluation et le contrôle des impuretés dans les substances et les produits pharmaceutiques.

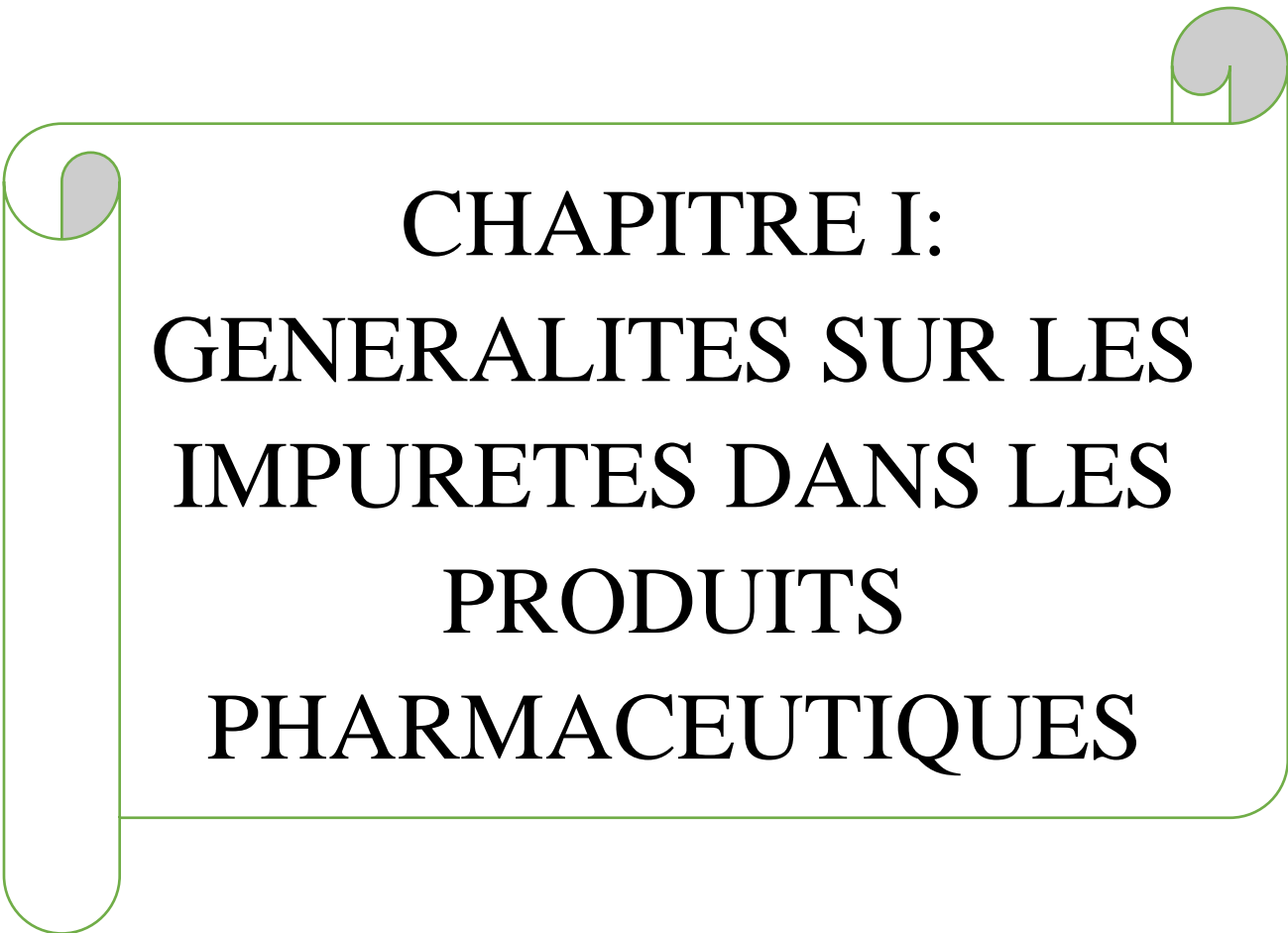
**Le quatrième chapitre** développe les différentes méthodes analytiques appliquées aux essais des impuretés tel que l'HPLC, CPG, et techniques spectrales, que nous avons utilisés dans notre partie pratique ainsi que d'autres techniques.

**La deuxième partie** est une partie pratique consacré aux conditions expérimentales et au traitement approfondie des résultats obtenues sur l'identification et le dosage de deux impuretés de type différentes :

- ✓ **3-keto-desogestrel** (impureté organique) : présent sur la substance active (**DESOGESTREL**) en utilisant deux monographies différentes, celles de l'USP et de la Pharmacopée Européenne.
- ✓ **Ethanol** (solvant résiduel) : présent sur un produit de validation (**PRODUIT X**), par une méthode interne qui utilise le CPG comme méthode d'analyse.



# PARTIE THEORIQUE

A decorative scroll graphic with a green border and grey circular accents at the corners, framing the title text.

# CHAPITRE I: GENERALITES SUR LES IMPURETES DANS LES PRODUITS PHARMACEUTIQUES



### I.1 Définition des impuretés :

Selon l'**PICH** (International Conference on Harmonization), une impureté dans la substance médicamenteuse est "Tout constituant de la substance médicamenteuse qui n'est pas l'entité chimique définie comme étant la substance médicamenteuse" et dans le produit fini est définie comme tout constituant du produit qui n'est pas la substance médicamenteuse ou un excipient, Elles peuvent comprendre les produits de dégradation, de synthèse, des produits de réactions secondaires [1,2].

L'analyse et le contrôle des impuretés sont l'un des domaines les plus réglementés de l'industrie pharmaceutique. Dans un produit pharmaceutique, une impureté est avant tout un problème de qualité. Puisqu'elle peut potentiellement compromettre l'efficacité du produit fini. Ensuite, les impuretés posent également des problèmes de sécurité. De ce fait, toute impureté présente dans un produit pharmaceutique doit être parfaitement comprise, tant sur le plan qualitatif (chimique) que quantitatif, et qualifiée, si nécessaire, par une évaluation toxicologique. D'un point de vue chimique, les impuretés pharmaceutiques sont inévitables car aucune réaction chimique n'a une sélectivité de 100 % et aucun composé chimique n'est stable "comme un roc". Néanmoins, il est possible de réduire les impuretés par l'amélioration du processus de synthèse et par des études de pré formulation / formulation appropriées [3].

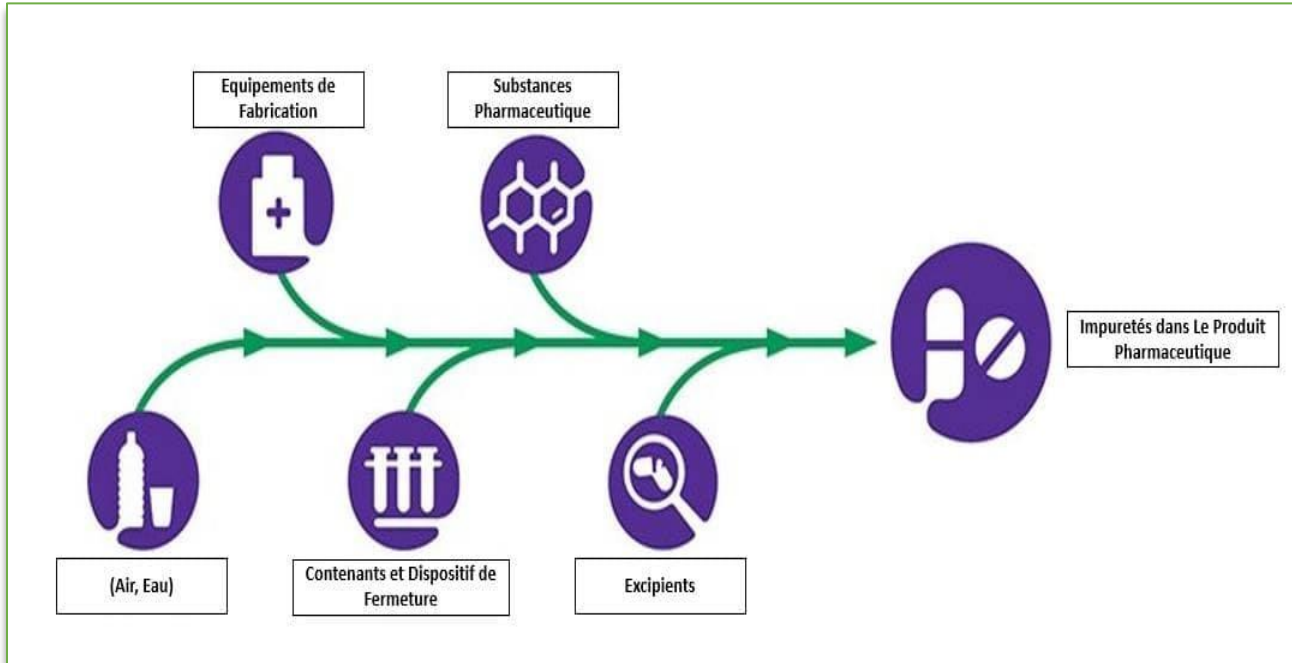
Lorsqu'on examine la production de produits pharmaceutiques, on observe des catégories larges de sources potentielles d'impuretés [4] :

- a) Les impuretés résiduelles découlant d'éléments intentionnellement ajoutés (ex, des catalyseurs) dans la formation de la substance pharmaceutique, des excipients ou des autres composants du produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur la substance pharmaceutique doit aborder le potentiel d'inclusion des impuretés dans le produit pharmaceutique.
- b) Les impuretés qui ne sont pas intentionnellement ajoutées et qui peuvent être présentes dans la substance pharmaceutique, l'eau ou les excipients utilisés dans la préparation du produit pharmaceutique.



- c) Les impuretés qui peuvent être introduites dans la substance ou le produit pharmaceutique par l'équipement de fabrication.
- d) les impuretés qui peuvent s'infiltrer dans la substance et le produit pharmaceutique à partir du contenant et dispositif de fermeture.
- e) les solvants résiduels qui présents comme étant des liquides organiques ou inorganiques volatiles utilisés dans la préparation de solutions ou de suspensions pour la synthèse d'une substance médicamenteuse ou d'excipients ou lors de la fabrication des produits pharmaceutiques.

Le diagramme suivant illustre les substances, l'équipement et les composants généralement utilisés dans la production d'un produit pharmaceutique. Chacune des sources potentielles susmentionnées, individuellement ou en combinaison, peut introduire des impuretés dans le produit pharmaceutique. Au cours de l'évaluation des risques, il faut tenir compte des contributions potentielles de chacune de ces sources pour déterminer l'apport général d'impuretés au produit pharmaceutique.



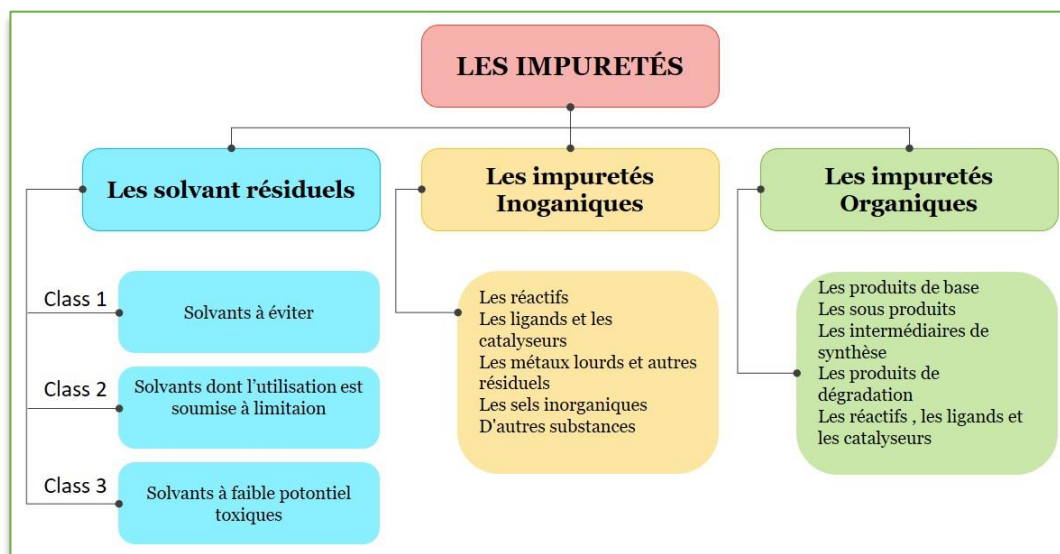
**Figure 01 : Diagramme montre les équipements et le composant utilisés dans la production d'un produit pharmaceutique**



## I.2 Classification des impuretés :

D'après l'ICH, les impuretés peuvent être classées en trois catégories [1] :

- **Les impuretés organiques** peuvent apparaître durant la fabrication et (ou) l'entreposage de la substance médicamenteuse. Elles peuvent être connues ou non, volatiles ou non et elles comprennent :
  - Les produits de base.
  - Les sous-produits.
  - Les intermédiaires de synthèse.
  - Les produits de dégradation.
  - Les réactifs, les ligands et les catalyseurs.
  
- **Les solvants résiduels** sont des liquides organiques ou inorganiques utilisés comme véhicule dans la préparation des solutions ou des suspensions utilisés dans la synthèse d'une substance médicamenteuse ou d'excipients ou lors de la fabrication des produits pharmaceutiques.
  
- **Les impuretés inorganiques** peuvent provenir du procédé de fabrication. Généralement, elles sont connues et identifiées et comprennent :
  - Les réactifs, les ligands et les catalyseurs.
  - Les métaux lourds et autres métaux résiduels.
  - Les sels inorganiques.
  - D'autres substances (p. ex. les adjuvants de filtration, le charbon de bois).



**Figure 02: Schéma de la classification des impuretés**

## I.2.1 Les impuretés organiques :

### I.2.1.1 Définition des impuretés organiques :

Les impuretés organiques, souvent appelées impuretés connexes ou liées à la synthèse, peuvent provenir de diverses sources et de différentes phases de la synthèse des médicaments en vrac et de la préparation des formes pharmaceutiques.

Il n'est pas toujours possible de faire une distinction nette entre les impuretés liées à la synthèse ou au procédé et les produits de dégradation : des produits de dégradation peuvent se former pendant la synthèse et l'isolement du produit final, ainsi que pendant le stockage du médicament en vrac et surtout pendant la formulation et le stockage de la forme pharmaceutique [5].

Etant donné qu'il existe plusieurs voies de synthèse possibles pour la préparation d'un même médicament et que dans le cas des médicaments génériques, beaucoup d'entre elles peuvent être utilisées dans la pratique, l'ensemble des structures des impuretés possibles présenté par la Pharmacopée Européenne [6] est dans de nombreux cas loin d'être complet : différentes synthèses peuvent donner lieu à d'autres structures.

Dans la suite de ce chapitre, plusieurs exemples seront présentés en les classant selon l'origine des impuretés.





### I.2.1.2 l'origine des impuretés organiques :

Les impuretés organiques peuvent survenir au cours du procédé de fabrication et ou de l'entreposage de la substance médicamenteuse. Elles proviennent du processus de synthèse et de dégradation de la substance médicamenteuse et des produits finis.

Les impuretés organiques peuvent être :

- ✓ **Des sous-produits** : indésirables d'une synthèse chimique elles peuvent survenir par de nombreuses voies différentes, par exemple, par la réaction d'un intermédiaire avec le solvant plutôt qu'avec le substrat désiré, par une cyclisation dans la mauvaise direction.
- ✓ **Matières premières** : par exemple, des traces de propylamine dans la butylamine peut conduire à un analogue au propyle de la substance médicamenteuse ou ils peuvent être des réactifs utilisés pendant la réaction. Des matières premières et des produits intermédiaires non réagis peuvent également être présents comme impuretés dans la substance médicamenteuse.
- ✓ **Dégradation du produit final** : lors de la fabrication de médicaments en vrac. Produits de dégradation résultant de l'entreposage ou de la formulation en différentes formes posologiques ou le vieillissement sont des impuretés courantes dans les médicaments. Par exemple, dans le cas de l'aspartame, en présence d'humidité, l'hydrolyse se produit pour former les produits de dégradation L-aspartyl-LPhénylalanine et 3-benzyl-6-carboxyméthyl 2, 5-diketopierazine [7].

### I.2.1.3 Classification des impuretés organiques :

Etant donnée qu'il n'existe pas une directive franche d'ICH qui permet la classification des impuretés organiques, une classification selon l'origine a été proposée [8] :

- **Dernier intermédiaire de la synthèse :**

Les impuretés appartenant à cette catégorie sont souvent appelées impuretés "probables" ou "attendues". Par exemple, la dernière étape de la synthèse du paracétamol est l'acétylation du 4-aminophénol : ce dernier est une impureté probable (mesurée par photométrie par la Pharmacopée européenne dans la matière première du médicament.

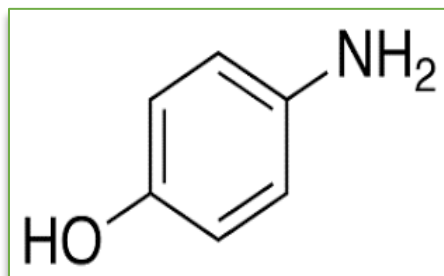


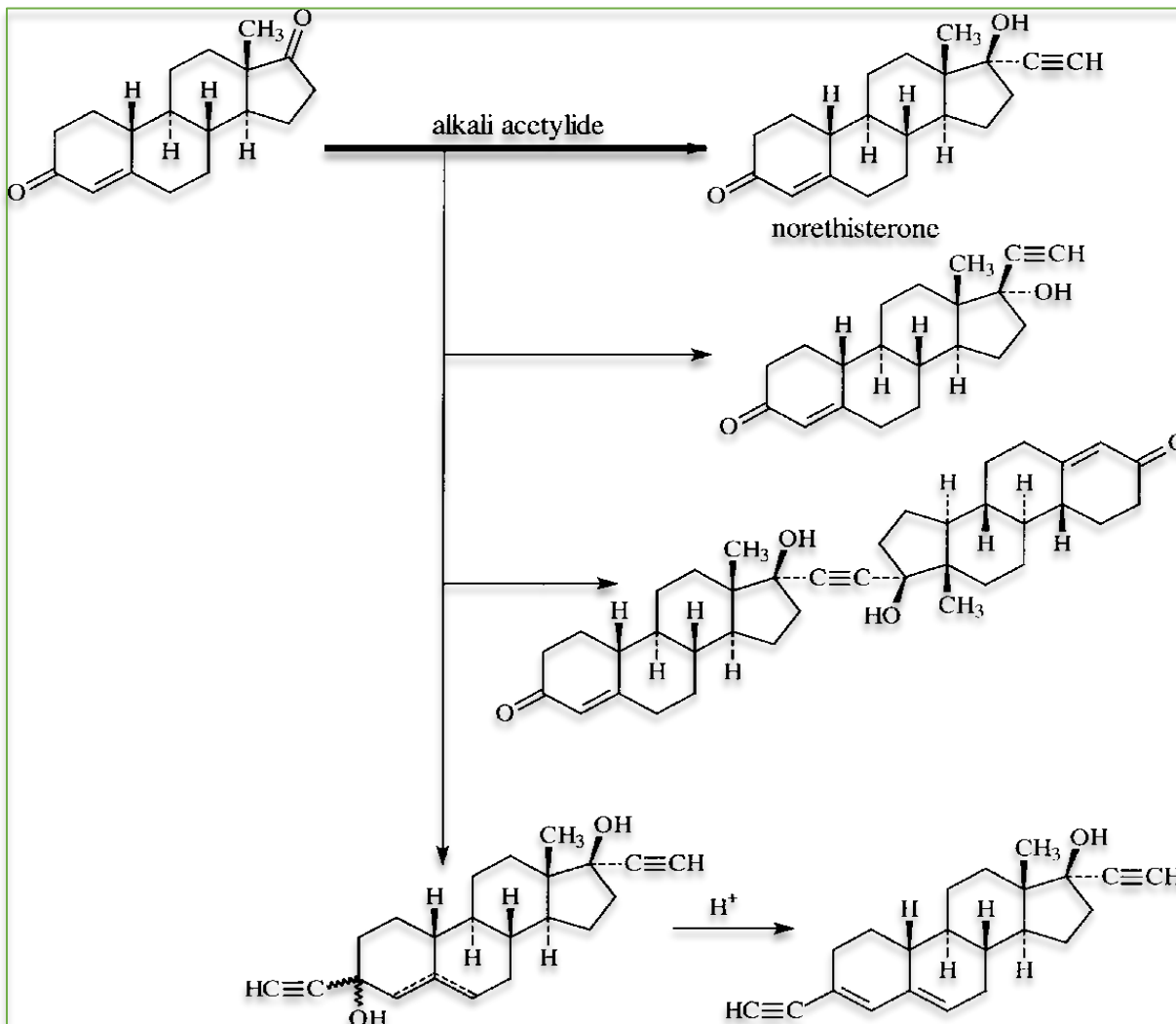
Figure 03 : structure chimique du 4-aminophénole

- **Produits de réaction incomplète au cours de la synthèse :**

Si le dernier intermédiaire possède deux groupes fonctionnels et que l'étape finale implique la même réaction sur les deux, il est toujours possible qu'un seul d'entre eux réagisse et qu'une impureté ayant partiellement réagi apparaisse.

Les impuretés de ce type entrent également dans la catégorie des impuretés probables. Par exemple, dans l'une des synthèses du diacétate d'éthinodiol ; l'étape finale est la diacétylation de l'éthinodiol (17 $\alpha$  -éthynylestra-4-ène-3 $\beta$  ,17-diol).

Comme la réactivité du groupe 3-hydroxy secondaire est beaucoup plus élevée que celle du 17-hydroxyle tertiaire, une impureté probable (et réelle) est le 3-acétate d'éthinodiol



**Figure 04 : éthylation 17-oxostéroïdes avec 3 réactions secondaires**

- **Impuretés provenant du catalyseur :**

L'utilisation de catalyseurs homogènes peut conduire à la formation d'impuretés rarement rencontrées dans lesquelles la molécule de catalyseur est incorporée.

Un exemple de ceci est la tosylation de la prednisolone en position 21 catalysée par la pyridine au cours d'une synthèse de la mazipredone.

Une impureté dans l'intermédiaire prednisolone-21- tosylate s'est avérée être le dérivé quaternaire 21-pyridinium de la prednisolone.

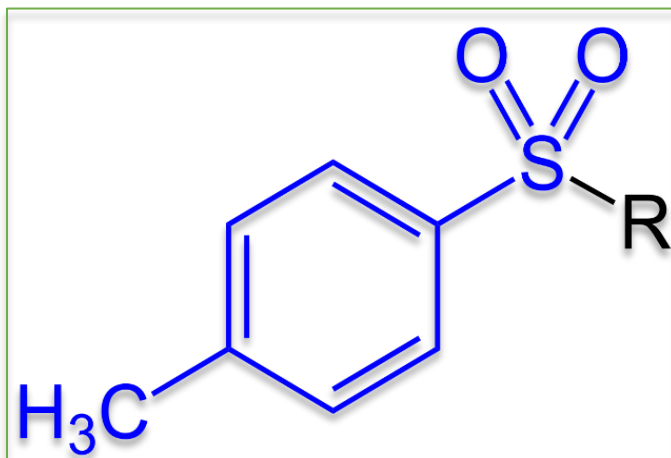


Figure 05 : Groupement tosyle

- **Impuretés énantiomériques :**

Dans le cas de médicaments chiraux administrés sous forme d'énantiomère pur, l'antipode est considéré comme une impureté.

- **Produits de dégradation en tant qu'impuretés :**

La dégradation du produit final de la synthèse du médicament peut avoir lieu dans le mélange réactionnel de l'étape finale ou pendant l'isolation, le séchage, etc.

C'est pourquoi les produits de dégradation constituent un groupe d'impuretés dans les médicaments. Par exemple, au cours de la réaction de Mannich conduisant à la tolperisone, la pipéridine et le formaldéhyde peuvent se séparer de la substance médicamenteuse pour former la 1-(4-méthylphényl)-prop-2-ène-1-one. La papavérine aussi peut être oxydée dans les conditions de l'étape finale de la synthèse en papavérinol et en papaveraldine.

La quantité de ces produits augmente dans les conditions de stockage, pour cette raison, ils peuvent être considérés comme des impuretés et également comme des produits de dégradation.

## I.2.2 Les solvants résiduels :

### I.2.2.1 Définition des solvants :

Les solvants résiduels utilisés dans les produits à usage pharmaceutique, sont définis comme :



<< Substances chimiques organiques volatiles utilisées ou produites dans le cadre de la fabrication des substances médicamenteuses ou d'excipients ou lors de la fabrication des produits finis >> [1].

Souvent, seule l'utilisation d'un solvant permet une réaction, que ce soit par un transfert de chaleur et de matière, par la stabilisation d'un état transitoire d'une réaction ou par la dilution pour éviter des réactions secondaires. Les étapes de nettoyage comme les précipitations, les cristallisations, les extractions ou les séparations chromatographiques ne sont possibles que grâce à elle. Toutefois, il y a souvent des pénétrations inattendues de solvants dans les produits finis comme les comprimés à travers l'enrobage ou la gravure.

En choisissant un solvant approprié dans la synthèse d'une substance pharmaceutique, on peut améliorer le rendement ou en définir les caractéristiques comme la forme cristalline, la pureté et la solubilité. Par conséquent, le solvant peut parfois être un élément crucial du procédé de synthèse. Etant donné que les solvants résiduels ne procurent aucun avantage thérapeutique, il faut les éliminer dans la mesure du possible afin de se conformer aux spécifications du produit, aux bonnes pratiques de fabrication ou à d'autres exigences liées à la qualité. Les produits pharmaceutiques ne peuvent contenir des concentrations de solvants résiduels dépassant les niveaux d'innocuité [9].

### **I.2.2.2 Les origines des solvants résiduels dans les médicaments :**

Aujourd'hui, la plupart des principes actifs sont obtenus soit par synthèse organique, soit par extraction d'organismes vivants (végétaux, animaux, champignons). Or, il n'existe pas de synthèse, ni d'extraction sans solvant. En effet, ils sont employés dans de multiples étapes de la fabrication du principe actif, comme milieu réactionnel, comme agent de dilution, d'extraction, de distillation et de purification, mais également dans les étapes de production du produit fini (cf. **figure 06**).

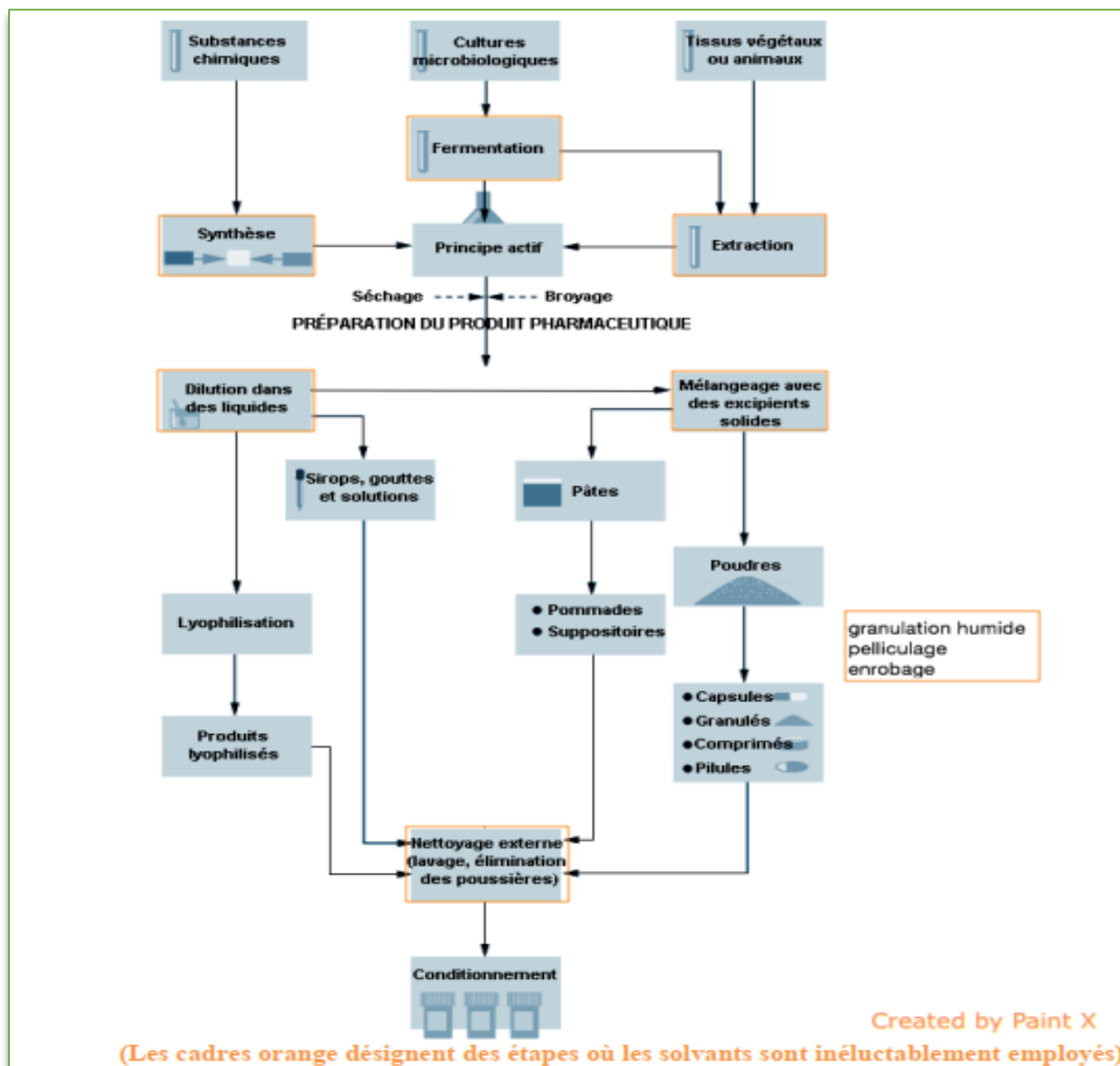


Figure 06 : Emplois usuels des solvants dans l'industrie [10]

Par ailleurs, les solvants résiduels sont aussi utilisés pour nettoyer les lignes de production et éviter toute contamination croisée, exigence réglementaire dictée par les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) [11].

La qualité des solvants utilisés est un critère primordial, car ils peuvent contenir également des impuretés, en particuliers d'autres solvants résiduels qui peuvent



s'accumuler dans les produits fabriqués lors des étapes de séchage. Ces derniers peuvent provenir de la synthèse des premiers ou de leur nature même, de leur transport ou de leur conservation (migration du contenant), de stabilisants ou de dénaturants, ainsi que de leur dégradation. Il est donc indispensable de contrôler la qualité des solvants utilisés comme matières premières et comme agents nettoyants [10].


### I.2.2.3 Classification des solvants résiduels:

En fonction de leur risque possible pour la santé humaine, les solvants sont répartis dans trois classes différentes selon le directive **Q3C** de l'**ICH** [12].

#### Classe 1 : Solvants à éviter :

Carcinogènes humains connus ou fortement suspectés, dangereux pour l'environnement.

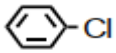

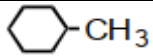
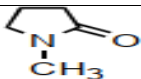
**Tableau 01 : Solvants de classe 1 dans les produits à usage pharmaceutique solvant à éviter [12]**

<b>Tableau 01 : Solvant</b>	<b>Autres Noms</b>	<b>Structure</b>
Benzène	Benzol	
Tétrachlorure de carbone	Tétrachloromethane	CCl <sub>4</sub>
1,2-Dichloroéthane	sym-Dichloroéthane Ethylène dichloride Ethylène chloride	CH <sub>2</sub> ClCH <sub>2</sub> Cl
1,1-Dichloroéthène	1,1-Dichloroéthylène Vinylidène chloride	H <sub>2</sub> C=CCl <sub>2</sub>
1,1,1-Trichloroéthane	Méthylchloroform	CH <sub>3</sub> CCl <sub>3</sub>

#### Classe 02 : Solvants dont l'utilisation est soumise à limitation :


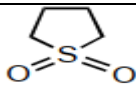

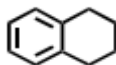
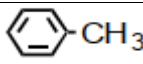
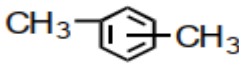
Carcinogènes animaux non-génotoxiques ou éventuels agents causals d'autres effets toxiques irréversibles tels que la neurotoxicité ou la tératogénicité.


**Tableau 02: Solvants de classe 2 dans les produits à usage pharmaceutique [12]**

<u>Solvant</u>	<u>Autres Noms</u>	<u>Structure</u>
Acétonitrile	/	CH <sub>3</sub> CN
Chlorobenzène	/	
Chloroforme	Trichlorométhane	CHCl <sub>3</sub>
Cyclohexane	Hexaméthylène	
1,2-Dichloroéthène	1,2-Dichloroéthylène Acétylène dichloride	ClHC=CHCl
Dichlorométhane	Méthylène chloride	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
1,2-Diméthoxyéthane	Ethylèneglycol diméthyl éther Monoglyme Diméthyl Cellosolve	H <sub>3</sub> COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>
N,N-Diméthylacétamide	DMA	CH <sub>3</sub> CON(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
N,N-Diméthylformamide	DMF	HCON(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
1,4-Dioxane	p-Dioxane [1,4]Dioxane	
2-Ethoxyéthanol	Cellosolve	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
Ethylèneglycol	1,2-Dihydroxyéthane 1,2-Ethandiol	HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
Formamide	Methanamide	HCONH <sub>2</sub>
Hexane	n-Hexane	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>
Méthanol	Méthyl alcohol	CH <sub>3</sub> OH
2-Méthoxyéthanol	Méthyl Cellosolve	CH <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
Méthylbutylcétone	2-Hexanone Hexan-2-one	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>
Méthylcyclohexane	Cyclohexylméthane	
N-Méthylpyrrolidone	1-Méthylpyrrolidin-2-one 1-Méthyl-2-pyrrolidinone	
Nitrométhane	/	CH <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>





Pyrridine	/	
Sulfolane	Tétrahydrothiophène 1,1-dioxyde	
Tétrahydrofurane	Tétraméthylène oxyde Oxacyclopentane	
Tétraline	1,2,3,4-Tetrahydro naphthalène	
Toluène	Méthylbenzène	
1,1,2-Trichloroéthène	Trichloroéthène	HCIC=CCl2
Xylène	Diméthylbenzène Xylol	

**Classe 3 : Solvants à faible potentiel toxique :**

Solvants à faible potentiel toxique pour l'homme ; aucune limite relative à l'exposition n'est exigée.

**Tableau 03 : Solvants de classe 3 devant être limités par les BPF ou par d'autres exigences de qualité [12]**

Acide acétique	Ethanol	3-Méthyl-1-butanol
Acétone	Acétate d'éthyle	Méthyléthylcétone
Anisole	Ether éthylique	Méthylisobutylcétone
1-Butanol	Formate d'éthyle	2-Méthyl-1-propanol
2-Butanol	Acide formique	Pentane
Acétate de butyle	Heptane	1-Pentanol
tert-Butylméthyléther	Acétate d'isobutyle	1-Propanol



Cumène	Acétate d'isopropyle	2-Propanol
Diméthylsulfoxyde	Acétate de méthyle	Acétate de propyle

### I.2.3 Les impuretés inorganiques (élémentaires) :

#### I.2.3.1 Définition des impuretés élémentaires :

Les impuretés élémentaires sont des éléments chimiques, de la classe des métaux lourds et métalloïdes, ajoutés intentionnellement ou non dans le procédé de fabrication des médicaments et qui se retrouvent dans le produit fini à des quantités supérieures au seuil de contrôle. Les métaux lourds de préoccupation pharmaceutique qui doivent être pris en compte dans le processus d'évaluation des risques et de contrôle des impuretés élémentaires proposé dans la ligne directrice de l'ICH Q3D sont au nombre de 24 éléments. Ces éléments sont colorés dans le tableau périodique des éléments chimiques de la figure suivante [13].

Classe 1		Classe 2A		Classe 2A		Classe 3		Non concerné par la directive ICHQ3D	
H	He								
Li	Be							B	C
Na	Mg							N	O
								F	Ne
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni
								Cu	Zn
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd
								Ag	Cd
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt
								Au	Hg
Fr	Ra	Ac						Tl	Pb
									Bi
									Po
									At
									Rn
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm
									Bk
									Cf
									Es
									Fm
									Md
									No
									Lr

**Figure 07 : Classification des 24 impuretés élémentaires selon la directive ICHQ3D.**

#### I.2.3.2 Classification des impuretés élémentaires :



➤ **Classification des IE selon la directive Q3D de L'ICH :**

Selon la directive Q3D de L'ICH, les différentes impuretés élémentaires sont réparties en quatre classes en fonction de leur toxicité et de la probabilité de leur présence dans les produits pharmaceutiques.

La probabilité de la présence est établie à partir de plusieurs facteurs, notamment la probabilité de l'utilisation dans les procédés pharmaceutiques, la probabilité d'être une impureté co-isolée en compagnie d'autres impuretés élémentaires dans les substances utilisées dans les procédés pharmaceutiques, ainsi que l'abondance naturelle observée et la distribution de l'élément dans l'environnement [14]. Les différents groupes sont :

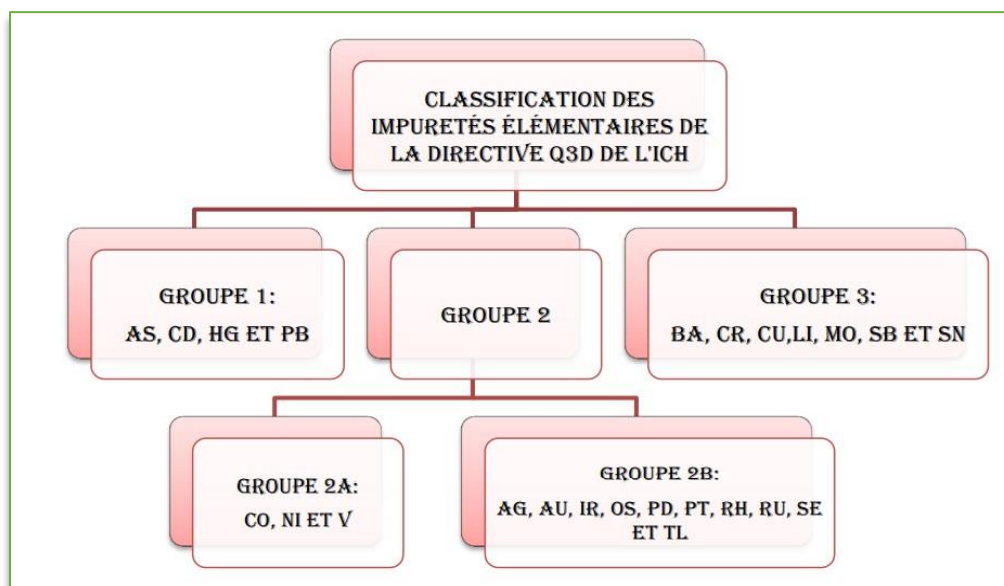
- **Classe 1 :** Les éléments de ce groupe sont : L'Arsenic (As), le Cadmium (Cd), le Mercure (Hg) et le Plomb (Pb). Ce sont des substances toxiques pour l'homme dont l'utilisation dans la fabrication des produits pharmaceutiques est limitée ou nulle.

Leur présence dans les produits pharmaceutiques provient généralement de substances couramment utilisées (par exemple, les excipients provenant de l'extraction minière). En raison de la nature unique de ces quatre éléments, toutes les sources potentielles d'impuretés élémentaires et toutes les voies d'administration doivent être évaluées pour les détecter au cours de l'évaluation des risques.

- **Classe 2 :** Les éléments de ce groupe sont généralement considérés comme étant des substances toxiques pour l'homme qui dépendent de la voie d'administration. Les éléments du classe 2 sont eux-mêmes répartis en sous-classes 2A et 2B en fonction de la probabilité relative de leur présence dans les produits pharmaceutiques.
  - **Classe 2A :** IE toxiques via certaines voies d'administration avec forte probabilité d'occurrence. Inclusion AR obligatoire. Les éléments qui appartiennent au groupe 2A sont les éléments Cobalt (Co), Nickel (Ni) et Vanadium (V).
  - **Classe 2B :** IE toxique mais de très faible abondance naturelle, peu de probabilité de présence dans médicaments. Inclusion AR si ajout intentionnel. Les impuretés élémentaires du groupe 2B comprennent les éléments Argent (Ag), Or (Au), Iridium (Ir), Osmium (Os), Palladium (Pd), Platinium (Pt), Rhodium (Rh), Ruthenium (Ru), Sélénium (Se) et Thallium (TI).
- **Groupe 3 :** Les éléments de ce groupe affichent des toxicités relativement faibles par la voie d'administration orale. Néanmoins, la toxicité pour les autres voies d'administrations reste un sujet de préoccupation. Donc il faut en tenir compte dans l'évaluation des risques pour l'administration par inhalation et par voie parentérale. Les éléments Baryum (Ba), Chrome (Cr), Cuivre (Cu), Lithium (Li), Molybdène (Mo), Antimoine (Sb) et Etain (Sn). Font parties de ce groupe.



- **Autre :** Quelques éléments ne sont pas inclus dans la version définitive de la guideline ICH Q3D, du fait de leur toxicité limitée. Ces éléments sont les suivants : Aluminium (Al), Bore (B), Calcium (Ca), Fer (Fe), Potassium (K), Magnésium (Mg), Manganèse (Mn), Sodium (Na), Tungstène (W) et Zinc (Zn). Notons que certains de ces éléments étaient présents dans la première version publique de la Guideline. Il faut néanmoins préciser que certaines de ces impuretés peuvent être concernées par une réglementation spécifique. Par exemple, la présence de tungstène (W) doit être évaluée pour les protéines thérapeutiques .



**Figure 08 : Classification des IE selon la directive Q3D de L'ICH.**

➤ **Classification des IE selon la directive l'EMA :**

Selon cette directive les impuretés élémentaires sont classées en trois classes. Les métaux présentant des toxicités importantes pouvant être cancérogènes pour l'homme sont placés dans la classe 1. Cette dernière est subdivisée en trois sous-classes appelées classes 1A, 1B et 1C. Le platine et le palladium relèvent de la classe 1A. Les éléments Ir, Os, Rh et Ru sont placés dans la classe 1B. Les éléments de la classe 1C sont Mo, Ni, Cr et V. Les métaux à faible risque pour la sécurité des patients sont placés dans la classe 2 et comprennent le Cu et le Mn.

La classe 3 comprend les métaux sans toxicité significative, les éléments entrant dans cette catégorie sont le Fe et le Zn [13].

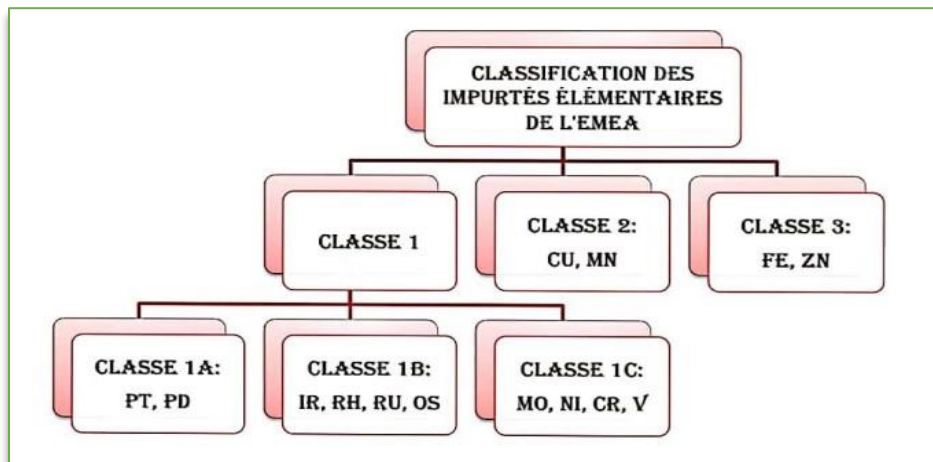


Figure 09 : Classification des IE selon la directive l'EMA.

A large, light green scroll graphic with a thin green border. The scroll is unrolled in the middle, revealing the chapter title. The top and bottom edges of the scroll are curved, and there are small grey circular accents at the corners where the scroll would be rolled up.

## CHAPITRE II: NOTION DE TOXICITE



La synthèse des substances médicamenteuses implique l'utilisation de produits chimiques réactifs, de solvants, de catalyseurs et d'autres auxiliaires technologiques, pour former la structure des intermédiaires de synthèse et finalement la substance médicamenteuse finale.

Ces composés décrits dans les voies de synthèse et les sous-produits de réaction peuvent résider à de faibles niveaux en tant qu'impuretés dans la substance médicamenteuse finale. Pour prévenir toute implication de sécurité de ces impuretés potentielles, des limites toxicologiques acceptables sont définies par des toxicologues, et le processus chimique est conçu pour contrôler les niveaux à la limite pré-définie ou en dessous. Les composants des synthèses peuvent être mutagènes ou cancérogènes.

Compte tenu de cette toxicité potentielle, une question évidente se pose : pourquoi ne pas éviter leur utilisation ?

Une étude récente de plus de 300 voies de synthèse publiée dans Organic Research and Development sur une période de 10 ans (2001-2010) donne un aperçu des stratégies de synthèse actuelles. Elle démontre clairement que les synthèses de produits pharmaceutiques via les voies complexes à plusieurs étapes ne sont pas réalisables sans l'utilisation de réactifs et d'intermédiaires réactifs (y compris potentiellement mutagènes) et, par conséquent, l'accent doit être mis sur un contrôle par opposition à l'évitement. La première exigence est d'établir des limites toxicologiques qui peuvent ensuite être utilisées comme base pour le développement d'une stratégie de contrôle [15].

➤ **Les limites d'exposition journalière admissible (EJA):**

Le terme dose journalière tolérable (TDI) est utilisé par le Programme international de sécurité chimique (PISC) pour décrire les limites d'exposition des produits chimiques toxiques et le terme dose journalière acceptable (DJA) est utilisé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et d'autres autorités et instituts de santé internationaux.

L'EJA est l'exposition maximale acceptable sur le plan pharmaceutique aux impuretés sur une base chronique qui ne devrait pas produire d'effets nocifs sur la santé. L'EJA s'applique à chaque substance pharmaceutique.

## II.1 Les impuretés organiques :

Les lignes directrices de qualité de l'ICH notent que les impuretés peuvent provenir de divers endroits, notamment des matières premières, des sous-produits, des produits intermédiaires, des produits de dégradation, des réactifs, des ligands et des catalyseurs. Il est important de noter



que la Q3A indique que les industries pharmaceutiques doivent "résumer les impuretés réelles et potentielles les plus susceptibles de survenir au cours de la synthèse, de la purification et du stockage de la nouvelle substance médicamenteuse".

Le tableau 4 illustre une série de seuils décrits dans la Q3A(R) de l'ICH qui déclenchent les exigences de déclaration, d'identification et de qualification. Ces seuils ne dépendent que légèrement de la quantité de médicament consommée par le patient. Comme la consommation d'une grande quantité de substance médicamenteuse signifie également une exposition à des niveaux plus élevés d'impuretés, les tolérances sont plus faibles lorsque l'exposition maximale quotidienne est supérieure à 2 g de PA. Lorsqu'une impureté atteint le niveau qui nécessite une "qualification", il incombe au développeur du médicament d'établir la sécurité de l'impureté. L'ICHQ3A(R) stipule que : "Le niveau d'impureté présent dans une nouvelle substance médicamenteuse qui a été testée de manière adéquate dans des études d'innocuité et/ou des études cliniques serait considéré comme qualifié.

Les impuretés qui sont également des métabolites significatifs présents dans les études animales ou humaines sont généralement considérées comme qualifiées. "Cela suggère qu'une impureté est qualifiée si elle était présente dans de PA utilisé dans les études précliniques et cliniques à un niveau égal ou supérieur à celui trouvé dans le produit commercialisé.

La ligne directrice poursuit en indiquant qu'une impureté peut être qualifiée même si le niveau dans le produit commercialisé est plus élevé que celui utilisé pendant le développement, tant que la quantité absolue testée dans ces études est importante par rapport à l'exposition résultant de la consommation du produit commercialisé.

Par exemple, un contaminant peut être présent à 0,05% dans la substance médicamenteuse utilisée lors du développement, mais se retrouver à 0,1% dans la substance médicamenteuse commercialisée. S'il existe des données toxicologiques où l'impureté a été testée à des multiples cliniques élevés, de sorte que la quantité absolue testée est élevée par rapport à la quantité consommée cliniquement, elle peut être considérée comme qualifiée.

Les seuils de déclaration, d'identification et de qualification des impuretés dans les nouveaux produits pharmaceutiques sont indiqués dans le tableau 5.

Les critères de qualification des impuretés dans les nouveaux produits pharmaceutiques suivent ceux cités ci-dessous pour les nouvelles substances pharmaceutiques.

Les impuretés présentes à des niveaux qui dépassent le seuil de qualification doivent être réduites ou qualifiées à l'aide de données issues de la littérature scientifique ou d'une expérimentation réelle. Les études toxicologiques mentionnées dans la Q3B(R) sont identiques à celles citées dans la Q3A(R) [16].





**Tableau 04 : seuil pour les différents types d'impuretés pour les PA selon ICH Q3A R2.**

Dose journalière maximale	Seuil de déclaration	Seuil de détection	Seuil de qualification
≤ 2 g/jour	0,05 %	0,10 % ou 1 mg/jour (la plus petite valeur)	0,15 % ou 1 mg/jour (la plus petite valeur)
>2 g/jour	0,03 %	0,05 %	0,05 %

**Tableau 05 : Seuils pour les produits de dégradation dans les nouveaux produits médicamenteux.**

Dose journalière maximale	Seuil de déclaration	Seuil d'identification	Seuil de qualification
≤1 mg		1,0 % ou 5 µg TDI selon la valeur la plus basse	
1 mg—10 mg		0,5 % ou 20 µg TDI selon la valeur la plus basse	
10 mg—100 mg			0,5 % ou 200 µg de TDI le plus bas des deux
b 10 mg			1,0 % ou 50 µg TDI le bas des deux
N 10 mg—2 g		0,2 % ou 2 mg de TDI selon la valeur la plus basse	
N 100 mg—2 g			0.2% ou 3 mg TDI selon la valeur la plus basse
≤1 g	0.1%		
N 1 g	0.05%		
N 2 g		0.1%	
N 2 g			0.15%



### II.1.2 Les seuils relatifs aux impuretés organiques :

- Seuil de déclaration « Limite au-delà de laquelle une impureté doit être identifiée »
- Seuil d'identification « Limite au-delà de laquelle une impureté doit être identifiée »
- Seuil de qualification « Limite au-delà de laquelle il y a lieu de qualifier une impureté »
  - ✓ Qualification est le Processus d'acquisition et d'évaluation des données établissant l'innocuité biologique d'une impureté spécifique ou d'un profil d'impuretés donné, à la teneur ou aux teneurs spécifiées.
  - ✓ Domaine d'application :
    - 1) Nouvelles entités préparées par synthèse chimique et non encore enregistrées
    - 2) Ne s'applique pas aux nouvelles substances en cours d'études cliniques lors du développement
    - 3) Ne sont pas couverts par ces seuils : Les produits biologiques ou biotechnologiques, les produits radio pharmaceutiques, les produits à base de plantes et les produits bruts d'origine animale ou végétale.

### II.1.3 impuretés organiques et leurs effets toxiques :

Afin de caractériser certaines impuretés organiques et leurs effets toxiques, un tableau a été établi ci-dessous

**Tableau 06 : certaines impuretés organiques et leurs effets toxiques.**

Médicament	Impureté	Leurs effets
Paracetamol	4-aminophenol	Néphrotoxique
Valsartan Candesartan Olmesartan	Nitrosamine : N -Nitrosodiméthylamine (NDMA) N -Nitrosodiéthylamine (NDEA)	Carcinogène
Lévodopa	acide (2R)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphényl)propanoïque (D-dopa)	Agranulocytose
Benzoate de métronidazol	L'acide benzoïque	Toxicité pulmonaire et neurotoxicité



**En juin 2018**, Le fabricant américain Prinston Pharmaceuticals Inc. avait contacté le Centre d'évaluation et de recherche sur les médicaments de la FDA pour informer l'agence qu'il avait arrêté la fabrication de produits à base de valsartan car il avait détecté des traces d'une impureté de nitrosamines appelée NDMA (N-nitrosodiméthylamine) dans de PA de valsartan fourni par le fabricant chinois Zhejiang Huahai.

**Juillet 2018**, Les autorités européennes ont pris connaissance de la présence de NDMA dans le valsartan fabriqué dans une installation basée en Chine. Par la suite, une autre nitrosamine NDEA (N-nitrosodiéthylamine) a été détectée et d'autres sartans provenant d'autres fabricants d'API ont été mis en cause.

**Fin 2018 - début 2019** Les entreprises qui fabriquent des médicaments contre la tension artérielle à base de sartan (également connus sous le nom d'antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II) sont tenues de revoir leurs procédés de fabrication afin qu'ils ne produisent pas d'impuretés de type nitrosamine et de nombreux rappels de valsartan se sont poursuivis tant dans l'UE qu'aux États-Unis.

**Septembre - novembre 2019**, la FDA a appris que certains médicaments à base de ranitidine contiennent une impureté de nitrosamines appelée NDMA (N-nitrosodiméthylamine). La FDA a détecté que certains médicaments à base de nizatidine (qui est chimiquement similaire à la ranitidine), contiennent également des impuretés NDMA.

**Décembre 2019**, L'EMA et la FDA sont informées de la présence de faibles niveaux de NDMA dans certains médicaments contre le diabète à base de metformine en dehors de l'Europe et des États-Unis.

Bien que l'objectif soit de ne pas avoir de teneurs quantifiables des impuretés de type nitrosamines dans les sartans, des limites provisoires ont été fixées pour la NDMA et la NDEA conformément aux lignes directrices internationales actuelles.

Les produits contenant l'une ou l'autre de ces impuretés dans des teneurs supérieures à ces limites, ou les produits contenant les deux nitrosamines, quelle qu'en soit la teneur, ne seront pas autorisés dans l'UE. Les limites sont basées sur la quantité maximale journalière pour chaque impureté établie sur la base d'études menées sur des animaux: 96,0 nanogrammes pour la NDMA et 26,5 nanogrammes pour la NDEA. En divisant ces valeurs par la dose quotidienne maximale pour chaque substance active, on obtient la limite en parties par million. La période de transition, qui durera deux ans, permettra aux entreprises d'apporter les modifications nécessaires à leurs procédés de fabrication et de mettre en place des tests permettant de détecter les quantités les plus faibles pour ces impuretés. À l'issue de cette période de transition, les entreprises devront démontrer que leurs produits ne contiennent pas de NDEA ou de NDMA, même dans des teneurs plus faibles (< 0,03 ppm).



Tableau 07 : Limites provisoires pour les impuretés NDMA et NDEA.

Substance active (dose quotidienne maximale en mg)	NDMA		NDEA	
	Quantité maximale journalière (ng)	Limite (ppm)	Quantité maximale journalière (ng)	Limite (ppm)
<b>Candésartan 32</b>	96	3,000	26,5	0,820
<b>Irbésartan 300</b>	96	0,320	26,5	0,088
<b>Losartan 150</b>	96	0,640	26,5	0,177
<b>Olmésartan 40</b>	96	2,400	26,5	0,663
<b>Valsartan 320</b>	96	0,300	26,5	0,082

Les investigations menées par l'EMA et les autorités nationales concernant la présence des impuretés de type nitrosamines dans les médicaments vont se poursuivre et seront étendues à d'autres impuretés telles que la N-nitrosoéthylisopropylamine (EIPNA), la N-nitrosodiisopropylamine (DIPNA) et l'acide N-nitroso-N-méthylamino-butérique (NMBA). Les autorités de l'UE vont également prendre en considération les leçons qui peuvent être tirées de cet examen afin d'améliorer la façon dont les impuretés contenues dans les médicaments sont identifiées et prises en charge [17].

## II.2 Les solvants résiduels:

La raison majeure qui explique la nécessité de rechercher et de limiter les solvants résiduels dans les substances pharmaceutiques, est leur toxicité. Les solvants organiques sont des substances très lipophiles, présentent tous des affinités pour les organes riches en lipides. Les principales cibles de ces solvants organiques sont donc la peau, le système nerveux, le foie et les reins. En effet, ils peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique et entraîner des atteintes au niveau du cerveau et de la moelle épinière [18].

En tant que première barrière de défense, la peau peut être fréquemment exposée à ces solvants, surtout pour les techniciens et autres manipulateurs présents dans la chaîne de production pharmaceutique. Ils ont une action plus ou moins agressive sur la peau et les muqueuses, et peuvent



entraîner des dermatoses parfois importantes. De plus, les solvants passent facilement la barrière cutanée du fait de leur lipophilie, ce qui peut entraîner de graves troubles toxiques.

Cette toxicité s'exprime également sur le système nerveux central, et peut se manifester aussi bien par de légers états d'ébriété, que par :

- des troubles du sommeil
- des difficultés de concentration
- des pertes de la mémoire
- des troubles de l'humeur, irritabilité
- des tendances dépressives
- une altération des fonctions cognitives
- une diminution de la dextérité manuelle

Les solvants sont également très toxiques pour le foie et le rein, et ceci s'explique par leur rôle dans l'élimination des xénobiotiques. Les solvants organiques étant hydrophobes, ils sont métabolisés par le foie afin d'être rendus plus hydrosolubles pour être éliminés par les reins. Cependant, comme leur capacité de détoxification est limitée, les solvants résiduels peuvent les léser. Par exemple les solvants halogénés sont particulièrement actifs sur ces organes. Ils entraînent fréquemment des insuffisances rénales pouvant même aller jusqu'à des nécroses rénales et hépatiques en cas d'exposition importante [18].

Une composante anémiant est également souvent retrouvée dans les solvants organiques. Les solvants les plus toxiques, tels que le benzène ou le tétrachlorure de carbone, peuvent avoir des effets mutagènes, carcinogènes et toxiques pour la reproduction. Leur nocivité provient également de leur disposition à s'accumuler dans les tissus adipeux, d'où ils peuvent être relargués dans l'organisme où ils causeront des dommages avec un certain temps de latence. Par exemple, le méthanol possède une toxicité ciblée sur le nerf optique, pouvant aller jusqu'à la cécité.

Par ailleurs, il est important de noter que la toxicité des solvants résiduels peut être aussi responsable de l'attribution à tort d'effets indésirables pour un nouveau médicament, lors des études précliniques de cancérogénèse, de mutagénèse et de toxicité chronique, ce qui pourrait provoquer un arrêt prématuré des études de développement.

En plus des causes de toxicité immédiate, il peut être important de vérifier les taux de solvants résiduels à d'autres fins [19] :



Peuvent influencer sur l'interaction contenant-contenu. En effet, s'il reste trop de solvants dans le produit synthétisé, il se peut qu'ils aient une action sur le contenant dans lequel est stockée la substance. Ceci pourrait engendrer une augmentation des quantités d'impuretés présentes dans la substance, et donc le risque encouru par les futurs utilisateurs de ce produit. D'autre part, une forte quantité de solvants résiduels peut éventuellement engendrer des modifications sur les propriétés physico-chimiques du principe actif ou des excipients. Cela peut par exemple modifier la mouillabilité ou la solubilité des cristaux constituant la substance active, ce qui peut présenter d'importants problèmes dans la fabrication ultérieure.

### II.2.1 Les limites des solvants résiduels [20]:

- **Les solvants de classe 1 :**

Les solvants de classe 1 ne doivent pas être employés dans la fabrication des principes actifs ou des médicaments, sans une justification rigoureuse du rapport bénéfice / risque. Celle-ci sera évaluée par les rapporteurs du dossier d'AMM.

Toutefois, si leur utilisation est inévitable pour la fabrication d'un produit pharmaceutique présentant une avancée thérapeutique significative, leurs niveaux doivent être limités comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 08 : Solvants de classe 1(solvant à éviter) et leurs limites [12].**

<b>Solvant</b>	<b>Limite de concentration (ppm)</b>	<b>Risque</b>
Benzène	2	Carcinogène
Tétrachlorure de carbone	4	Toxique et dangereux pour l'environnement
1,2-Dichloroéthane	5	Toxique
1,1-Dichloroéthène	8	Toxique
1,1,1-Trichloroéthane	1500	Dangereux pour l'environnement



- Les solvants de classe 2 :

Pour ceux de classe 2, doivent être utilisés avec prudence en vue de protéger les patients contre les effets indésirables potentiels. Il existe deux options légèrement différentes permettant de fixer les limites en fonction de la posologie quotidienne qui seront cités dans le chapitre III.

**Tableau 09 : Solvants de classe 2 et leurs limites [12].**

Solvant	EJA (mg/jour)	Limite de concentration (ppm)
Acétonitrile	4,1	410
Chlorobenzène	3,6	360
Chloroforme	0,6	60
Cyclohexane	38,8	3880
1,2-Dichloroéthène	18,7	1870
Dichlorométhane	6,0	600
1,2-Diméthoxyéthane	1,0	100
N,N-Diméthylacétamide	10,9	1090
N,N-Diméthylformamide	8,8	880
1,4-Dioxane	3,8	380
2-Ethoxyéthanol	1,6	160
Ethylèneglycol	6,2	620
Formamide	2,2	220
Hexane	2,9	290
Méthanol	30,0	3000
2-Méthoxyéthanol	0,5	50
Méthylbutylcétone	0,5	50
Méthylcyclohexane	11,8	1180
N-Méthylpyrrolidone	5,3	530
Nitrométhane	0,5	50
Pyridine	2,0	200
Sulfolane	1,6	160
Tétrahydrofurane	7,2	720
Tétraline	1,0	100
Toluène	8,9	890
1,1,2-Trichloroéthène	0,8	80
Xylène*	21,7	2170



- **Les solvants de la classe 3 :**

Les solvants de classe 3 sont à utiliser préférentiellement. La limite admissible est de 50 mg/jour, sans justification particulière. Des taux plus élevés peuvent être tolérés à conditions qu'ils soient réalistes en matière de faisabilité de production et de bonnes pratiques de fabrication. Cependant, si un solvant de classe 3 présente une limite justifiée et autorisée supérieure à 0,5 %, il y a lieu de procéder à une détermination spécifique de ce dernier par des méthodes chromatographiques, et non par le biais d'une simple perte à la dessiccation, technique habituellement utilisée pour vérifier les teneurs limites en solvants résiduels pour les solvants de classe 3.

### II.3 Les impuretés inorganiques :

La classification des éléments des IE s'établit en partie selon leur toxicité. Comme nous emploierons dans cette partie **des termes spécifiques [21]** relatifs à la toxicité, il paraissait judicieux de les définir brièvement.

**Reprotoxique** – Un produit classé reprotoxique affecte les capacités reproductrices, en réduisant la fertilité ou en entraînant la stérilité. Ils peuvent avoir une action directe sur les gonades, ou indirecte en modifiant le comportement sexuel (perturbateur endocrinien). Certains reprotoxiques ont même une action sur le développement embryonnaire des organes génitaux *in utero*.

**Mutagénique** – Agent ou substance susceptible de produire des mutations. Les mutations sont des modifications irréversibles du nombre ou de la structure des chromosomes, pouvant produire des anomalies héréditaires ou en augmenter la fréquence.

**Génotoxique** – Une substance est dite génotoxique (d'origine physique ou chimiques chimiques, ex: rayonnement ultraviolet... ) provoquant l'apparition de lésions dans l'ADN, qui peuvent éventuellement conduire à des mutations.

**Cancérogène** – Se dit d'une substance, d'un facteur ou d'une situation susceptible de favoriser l'apparition d'une tumeur maligne (on dit à tort cancérigène).

#### II.3.1 Classe 1 :

La classe 1 regroupe 4 éléments : Le Plomb, l'Arsenic, le Mercure et le Cadmium. Et ce sont considérés comme des éléments toxiques pour l'homme quel que soit la voie d'administration.

❖ Le Plomb [21-25]

\*\* Les voies d'exposition :





- Par inhalation, dans ce cas le plomb est souvent sous forme de vapeur ou de poussières.
- Par voie orale, lorsque le plomb se trouve sur les aliments ou des objets pouvant entraîner une contamination manu portée.
- Par voie cutanée (mais elle est très faible).

**\*\* Distribution :**

Une fois dans le sang, le plomb se propage dans plusieurs organes tels que les reins, la rate, le foie ou encore les os. La majorité du plomb présent dans l'organisme se trouve fixé aux os (plus de 90% du plomb), le reste étant dans les tissus mous ou le sang.

**\*\* Toxicité :**

Le plomb est un élément dangereux pour la santé humaine même à petite dose lorsque l'on y est exposé de manière chronique. En effet, étant donné sa distribution dans l'organisme son élimination est lente et il peut s'accumuler dans beaucoup d'organes tels que le système digestif, les reins ou encore le cerveau.

Ainsi, les effets toxiques surviennent souvent après une exposition chronique provoquant ce que l'on appelle le saturnisme. Ses symptômes sont divers et se manifestent sous différentes formes :

➤ Effets neurotoxiques : Selon la dose, les symptômes peuvent aller d'une encéphalopathie convulsivante pouvant aller jusqu'au décès pour des doses élevées à des troubles neurocomportementaux pour des doses plus faibles tels qu'une irritabilité, nervosité ou des insomnies.

➤ Effets hématologiques : Le plomb bloque certaines enzymes impliquées dans la synthèse de l'hémoglobine ce qui provoque, à terme, une anémie généralement modérée.

➤ Effets digestifs : Maux de ventre, nausées, vomissements ou constipation.

❖ L'Arsenic : [26]

**\*\* Les voies d'exposition:**

- Par voie orale, chez l'homme provoquerait des cancers de la peau, du foie, des poumons, du rein et de la vessie.
- Par inhalation augmente significativement le risque de cancer du poumon.
- Absorption percutanée, des symptômes de type eczéma apparaissent avec des degrés de gravité variés.

**\*\* Distribution :**

L'arsenic est transporté dans le sang et distribué rapidement aux divers. Les zones de stockage prolongé sont, outre les os et les muscles, les tissus riches en kératine

**\*\* Toxicité :**



Les signes cliniques liés à des intoxications à l'arsenic et ses dérivés inorganiques/minéraux sont multiples et touchent plusieurs organes avec plus ou moins de gravité selon le type d'exposition : court terme et long terme.

Le contact cutané ou muqueux avec des dérivés inorganiques trivalents de l'arsenic, très irritants, peut conduire à des brûlures chimiques.

L'inhalation de composés inorganiques est responsable d'irritation des tractus respiratoire et digestif.

➤ Effets respiratoires : Il s'agit d'une irritation des muqueuses des voies respiratoires avec rhinite, ulcérations ou perforation de la cloison nasale, pharyngite, laryngite, bronchite.

➤ Effets cardio-vasculaires : Une augmentation de la prévalence du phénomène de Raynaud est rapportée chez des employés d'une fonderie de cuivre exposés au trioxyde de di arsenic.

➤ Autres effets : Certains effets semblent plus spécifiquement observés en cas d'exposition par voie orale : effets hématologiques (anémie et leucopénie), diabète.

#### ❖ Mercure [27, 28]

\*\* Les voies d'exposition:

Peut pénétrer l'organisme selon deux voies principalement :

- L'ingestion : Dans ce cas, il s'agit de mercure sous forme organique qui pourrait être présent à la surface de la nourriture entre autres.
- L'inhalation : Dans ce cas, le mercure passe de la forme liquide à une forme gazeuse (vapeur).

\*\* Toxicité :

Le type de toxicité du Mercure va dépendre de l'état du mercure.

➤ Etat liquide ( $Hg^0$ ) : Sous cette forme, le mercure n'est pas toxique pour l'organique car très peu absorbé par voie orale. En effet, plus de 99% du mercure ingéré sous cette forme est éliminé par les voies naturelles (fèces et urines).

➤ Etat vapeur : Sous cette forme le mercure n'est plus ingéré mais inhalé. Ainsi, l'obstacle que peut représenter le système digestif dans son absorption est éliminé. Le mercure peut donc sous forme de vapeur mercurielle passé dans les poumons et donc le sang pour ensuite intoxiquer des organes tels que le cerveau. Cela provoque des troubles de la vision, de la sensibilité, de la parole ou encore de l'audition.

➤ Etat ionisé : Sous cette forme le mercure peut pénétrer dans l'organisme par voie orale ou cutanée. Dans ces cas, le mercure contaminera essentiellement le foie et les reins.



### ❖ Cadmium [29, 30]

Le Cadmium est un génotoxique (non mutagène) et cancérigène.

\*\* Les voies d'exposition :

Les effets toxiques du cadmium dépendent de la forme de cet élément et de la voie d'administration. En effet, cette dernière influence l'absorption et donc la concentration du cadmium dans l'organisme.

Le cadmium peut pénétrer l'organisme selon deux voies : Orale et inhalée

- L'ingestion : Dans ce cas, une faible quantité absorbée peut suffire à provoquer des troubles gastro-intestinaux tels que des vomissements ou diarrhées. Dans les cas sévères, une déshydratation importante de l'organisme peut survenir.
- L'inhalation : Dans ce cas, l'inhalation de cadmium sous forme de fumées ou de poussières (diamètre inférieur à 5 microns) de façon prolongée peut provoquer rapidement des troubles pulmonaires graves.

Les principales sources de contamination sont l'alimentation et le tabagisme.

Tout comme le mercure, la forme du cadmium joue un rôle dans sa solubilité et donc dans son potentiel toxique. En effet, le chlorure de cadmium est la forme la plus toxique car la plus soluble.

#### Le cadmium et le cancer :

Le Cadmium est classé, depuis 1993, dans le groupe 1 selon la classification du CIRC. Il s'agit donc d'un élément considéré comme cancérigène. Une exposition par inhalation de poussières ou de fumées contenant du cadmium peut être à l'origine de cancers du poumon. Une absorption orale de substances contenant du cadmium peut provoquer l'apparition d'autres types de cancers tels que celui de la prostate ou du sein.

Probabilité de présence : La probabilité de présence de ces éléments dans le procédé de fabrication des médicaments est limitée. Cependant, ils peuvent être présents à l'état de traces dans les produits pharmaceutiques via les matières premières utilisées telles que les excipients issus de l'extraction minière

Traitement dans l'évaluation du risque : D'après la directive ICHQ3D, en raison de la toxicité importante des éléments de classe 1 ils doivent obligatoirement être pris en compte dans l'évaluation du risque quelques soit leurs sources ou la voie d'administration.

#### **II.3.2. Classe 2 :**

La classe 2 regroupe 13 impuretés élémentaires qui sont divisés en deux sous classes : la classe 2A et la classe 2B. En fonction de leur probabilité de présence dans les produits pharmaceutiques.



### II.3.2.1 Classe 2A :

Selon la directive ICHQ3D, la sous-classe 2A englobe 3 des 13 impuretés élémentaires de la classe 2 : Le Cobalt, le Nickel et le Vanadium. Ces éléments sont considérés comme toxiques pour l'homme mais contrairement aux éléments de classe 1, cette toxicité dépend de la voie d'administration.

La toxicité de ces impuretés élémentaires est donnée ci-dessous [31].

#### ❖ Cobalt :

**Tableau 10 : Toxicité du Cobalt.**

Types d'effets	Voie orale/ingestion	Inhalation	Voie cutanée
<b>Effets aigus</b>	Le cobalt élémentaire ne présente aucun risque aigue connu sur la santé humaine lorsqu'il est ingéré. Seul sa forme oxydée peut entrainer des vomissements, des nausées voire la mort en cas de surdosage.	Le cobalt inhalé entraîne principalement des manifestations respiratoires telles que des pneumopathies, des rhinites ou encore des hypersensibilités.	Absence de données démontrant des effets aigus du cobalt par exposition dermales.
<b>Effets chroniques</b>	L'ingestion de cobalt sur le long terme peut entrainer des effets respiratoires, hématologiques tels que la polyglobulie, cardiovasculaires, hépatiques, oculaires ou encore musculosquelettiques.	Le cobalt touche essentiellement le système respiratoire entrainant des manifestations telles que des pneumonies, des irritations, des fibroses ou encore des crises d'asthme. Des cardiomyopathies ont également été décrites à la suite d'expositions au cobalt.	La contamination par voie cutanée peut entrainer des dermatites d'origine asthmatique.
<b>Cancérogénicité</b>	Selon CIRC, le sulfate de cobalt et ses autres sels solubles sont classés dans le groupe 2B qui rassemble des substances cancérigènes potentielles pour les humains		

❖ Nickel :

Tableau 11 : Toxicité du Nickel.

Types d'effets	Voie orale/ingestion	Inhalation	Voie cutanée
<b>Effets aigus</b>	De par sa nature insoluble le Nickel élémentaire n'est pas toxique. Cependant, les formes ioniques peuvent provoquer des troubles digestifs, hématologiques et rénaux.	Absence d'effets immédiats documentés lors d'une intoxication par du nickel.	Le nickel peut provoquer des hypersensibilités.
<b>Effets chroniques</b>	Absence de données.	L'intoxication chronique par voie respiratoire peut entraîner plusieurs manifestations sur le long terme : Fibroses, Emphysèmes, bronchites chroniques et des troubles de la fonction respiratoire.	Absence de données.
<b>Cancérogénicité</b>	L'exposition à long terme au nickel est corrélée à une augmentation du risque de survenu du cancer du poumon et des cavités nasales. Selon le CIRC, le nickel est génotoxique mais non mutagène et est classé comme substance cancérogène soit le groupe 1.		

❖ Vanadium :

Tableau 12 : Toxicité du Vanadium.

Types d'effets	Voie orale/ingestion	Inhalation	Voie cutanée
<b>Effets aigus</b>	La forme pentoxyde de vanadium est toxique pour le sang, les reins et le foie.	Plusieurs études montrent que l'exposition à des concentrations élevées de vanadium pendant de courtes durées peut entraîner des symptômes respiratoires qui persistent pendant 1 à 2 semaines	Absence de données disponibles.
<b>Effets chroniques</b>	Absence de données disponibles.	L'intoxication chronique par voie respiratoire peut provoquer plusieurs effets tels que des irritations, des bronchites chroniques ou des pneumonies.	Absence de données disponibles.



<b>Cancérogénicité</b>	Le vanadium élémentaire est génotoxique mais non mutagène. Selon le CIRC, le pentoxyde de vanadium est considéré comme substance cancérigène potentielle et est classé dans le groupe 2B.
------------------------	---

### II.3.2.2 Classe 2B :

Selon la directive ICHQ3D, La sous-classe 2B englobe 10 des 13 impuretés élémentaires de la classe 2 : L'argent (Ag), l'Or (Au), l'Iridium (Ir), le palladium (Pd), le platine (Pt), le Thallium (Tl), le sélénium (Se), le Rhodium (Rh), le Ruthénium (Ru) et l'osmium (Os). Les effets aigus de ces éléments sont décrits dans le tableau (.) ainsi que les effets chroniques non cancérogènes et cancérogènes induits par les différentes formes chimiques de certaines impuretés élémentaires métaux.

Les données de ce tableau sont tirées des fiches toxicologiques de l'INERIS [31,32].

**Tableau 13 : Toxicité des impuretés de class 2B**

	Types d'effets	Voie orale/ingestion	Inhalation	Voie cutanée
<b>l'Argent</b>	<b>Effets aigus</b>	Absence de données disponibles.	L'inhalation de doses élevées d'argent peut entraine l'irritation du système respiratoire et des troubles gastriques.	Absence de données disponibles.
	<b>Effets chroniques</b>	L'ingestion à long terme d'argent peut provoquer l'argyrie qui se manifeste par une décoloration bleu grisée de la peau. Cela est dû à une accumulation d'argent sous le derme associé à une surproduction de mélanine stimulée par l'argent	Une exposition prolongée à l'argent par voie respiratoire peut entrainer des irritations des voies aériennes supérieures.	Absence de données disponibles.
	<b>Cancérogénicité</b>	L'Argent n'est pas mutagène. De même, il n'y a pas de données d'études précliniques ou épidémiologiques qui démontrent un effet cancérigène de l'argent.		
<b>Thallium</b>	<b>Effets aigus</b>	Les premiers signes d'une intoxication apparaissent les 5 premiers jours après l'ingestion : gastro-	La revue des études sur des effets toxiques par inhalation du thallium est peu concluante	Absence de données disponibles.



		entérite, nausées, vomissements, diarrhées, hémorragies intestinales, gout métallique.		
	<b>Effets chroniques</b>	Les symptômes sont pratiquement les mêmes que lors d'une intoxication aigue (symptômes neurologiques, cardiaques et cutanée) .	Une exposition prolongée aux bromure et iodure de thallium peut provoquer de l'asthénie et des troubles vasculaires.	Absence de données disponibles.
	<b>Cancérogénicité</b>	Il n'y a pas de données solides pouvant démontrer un effet cancérigène du thallium.		
<b>Sélénium</b>	<b>Effets aigus</b>	L'acide sélénieux peut induire la mort à la suite d'atteintes sévères des systèmes respiratoires et cardio-vasculaires. Apparition d'une odeur d'ail de l'haleine et de la sueur, gout métallique dans la bouche.	L'inhalation de dioxyde de sélénium a des effets comparables à ceux survenant après ingestion.	Absence de données disponibles.
	<b>Effets chroniques</b>	Les composés du sélénium peuvent induire à long terme une sélénose qui se caractérise par la perte des phanères, des lésions dermiques (ulcérations...) et des atteintes neurologiques.	Une exposition prolongée aux composés du sélénium a des effets respiratoires importantes (irritation, toux) tels que ceux décrit lors d'une intoxication aigue. A cela s'ajoute de l'irritabilité et des troubles digestifs.	Absence de données disponibles.
	<b>Cancérogénicité</b>	Le CIRC classe cet élément dans le groupe 3 donc inclassifiable en termes de carcinogénèse. Selon la US EPA, le composé sulfure de sélénium est classé dans le groupe B2 (cancérogènes probables pour les humains).		

- L'Or :

Pour l'or élémentaire est peu soluble, il n'est donc pas considéré comme particulièrement toxique. Cependant, il existe sous plusieurs formes oxydés (degrés d'oxydation de +1 à +5).



L'or présent dans les produits pharmaceutiques est essentiellement issu de son utilisation comme catalyseur. La particularité de l'or réside dans ses facultés thérapeutiques lorsqu'il est sous forme de sel associé à du sulfure (Au-S).

Il n'existe aucune donnée pertinente sur la toxicité potentielle des formes d'or que l'on pourrait trouver dans les produits pharmaceutiques telles que l'AU<sub>3</sub><sup>+</sup>.

➤ Le reste de cette sous-classe sont des éléments du groupe platine (EGP) ou platinoïdes. Ce groupe du platine est composé de 7 éléments du tableau périodique ayant des propriétés similaires : Le Platine (Pt), le Ruthénium (Ru), le Palladium (Pd), le Rhénium (Re), le Rhodium (Rh), l'Osmium (Os) et l'Iridium (Ir). Ils sont notamment de puissants catalyseurs. A noter qu'il existe peu de données toxicologiques sur les éléments du groupe du platine (EGP) mis à part pour le platine lui-même.

### II.3.3 Classe 3 :

La classe 3 regroupe 7 éléments : le Baryum (Ba), l'Antimoine (Sb) le Chrome (Cr), le Cuivre (Cu), le Molybdène (Mo), le Lithium (Li) et l'Etain (Sn).

Toxicité : Ces éléments sont considérés comme peu toxique pour l'homme pour une contamination par voie orale. En effet, il faut des doses journalières très élevées pour avoir des effets toxiques [33].

#### ✓ **Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) et de concentration des impuretés élémentaires de la directive Q3D de l'ICH :**

Les EJA du présent tableau ont été établies en fonction des données sur l'innocuité décrites dans les monographies figurant à l'annexe 3 de la directive Q3D de l'ICH [14] et visent les nouveaux produits pharmaceutiques.

Les EJA indiquées dans les monographies ne sont pas arrondies. Par souci de commodité, les EJA du présent tableau ont été arrondies à 1 ou 2 chiffres significatifs. Les EJA inférieures à 10 affichent 1 chiffre significatif et sont arrondies à l'unité la plus proche. Les EJA supérieures à 10 sont arrondies à 1 ou 2 chiffres significatifs, selon le cas. Les principes appliqués pour arrondir les chiffres du présent tableau s'appliquent à toutes les EJA calculées pour les autres voies d'administration. Les valeurs indiquées dans ce tableau représentent aussi les concentrations admissibles en microgrammes par gramme d'impureté élémentaire dans les produits pharmaceutiques, les substances pharmaceutiques et les excipients. Ces limites de concentration





sont prévues pour être utilisées pour évaluer la teneur en impuretés élémentaires des produits pharmaceutiques dont la dose journalière est inférieure ou égale à 10 grammes par jour.

**Tableau 14 : Expositions journalières admissibles et les concentrations maximales autorisées pour [14]**

<i>Impureté élémentaire</i>	<i>classe</i>	<i>Voie orale</i>		<i>Voie Parentérale</i>		<i>Voie nasale (inhalation)</i>	
		<i>EJA (µg/j)</i>	<i>Concentration (µg/g)</i>	<i>EJA (µg/j)</i>	<i>Concentration (µg/g)</i>	<i>EJA (µg/j)</i>	<i>Concentration (µg/g)</i>
<b>Cd</b>	1	5	0.5	2	0.2	2	0.2
<b>Pb</b>	1	5	0.5	5	0.5	5	0.5
<b>As</b>	1	15	1.5	15	1.5	2	0.2
<b>Hg</b>	1	30	0.3	3	0.3	1	0.1
<b>Co</b>	2A	50	5	5	0.5	3	0.3
<b>V</b>	2A	100	10	10	1	1	0.1
<b>Ni</b>	2A	200	20	20	2	5	0.5
<b>Tl</b>	2B	8	0.8	8	0.8	8	0.8
<b>Au</b>	2B	100	10	100	10	1	0.1
<b>Pd</b>	2B	100	10	10	1	1	0.1
<b>Ir</b>	2B	100	10	10	1	1	0.1
<b>Os</b>	2B	100	10	10	1	1	0.1
<b>Rh</b>	2B	100	10	10	1	1	0.1
<b>Ru</b>	2B	100	10	10	1	1	0.1
<b>Se</b>	2B	150	15	80	8	130	13
<b>Ag</b>	2B	150	15	10	1	7	0.7
<b>Pt</b>	2B	100	10	10	1	1	0.1
<b>Li</b>	3	550	55	250	25	25	2.5
<b>Sb</b>	3	1200	120	90	9	20	2
<b>Ba</b>	3	1400	140	700	70	300	30
<b>Mo</b>	3	3000	300	1500	150	10	1
<b>Cu</b>	3	3000	300	300	30	30	3
<b>Sn</b>	3	6000	600	600	60	60	6
<b>Cr</b>	3	11000	1100	1100	110	3	0.3



## **CHAPITRE III : ASPECT REGLEMENTAIRE**



L'étude des impuretés dans les produits pharmaceutiques est l'un des sujets les plus appréciés ; elle est essentielle, mais exige beaucoup de temps et pose des défis. D'une manière générale, les objectifs de l'étude des impuretés s'articulent autour de deux axes principaux : les exigences réglementaires et les exigences scientifiques et techniques.

Du point de vue des exigences réglementaires, les impuretés peuvent affecter la qualité des principes actifs et des produits pharmaceutiques et, en fin de compte, la sécurité des patients.

Un certain nombre de directives et de lignes directrices internationales/locales pour l'évaluation et le contrôle des impuretés dans les substances et les produits pharmaceutiques ont été publiées. La comparaison des champs d'application en fonction des catégories d'impuretés a été établie comme indiqué dans la figure 10.

Impurities	Drug substances	Drug products	Biological products
Organic impurities: Process-related	ICH Q3A, FDA 2009, USP <1086>	USP <1086>	WHO 2014 (Series No. 987)
Organic impurities: Drug-related products		ICH Q3B, FDA 2010	
Residual solvents		ICH Q3C, USP <467>	ICH Q3C*
Inorganic & elemental		ICH Q3D, USP <232>, <233>, <1086>, EMA 2007, 2008, 2017	
		FDA 2018	
Genotoxic	FDA 2008		
	ICH M7		
	EMA 2006		

**Figure 10 : Comparaison des champs d'application des lignes directrices/guides réglementaires pour la gestion des impuretés dans les produits pharmaceutiques [34]**



### III.1 La Pharmacopée Européenne :

Historiquement, après la Seconde Guerre mondiale, une nouvelle tendance de pharmacopées internationales a émergé. Des groupes de pays ont commencé à travailler ensemble afin de remplacer les pharmacopées nationales par des ouvrages communs, comme la Pharmacopée européenne. D'autres régions ont également conservé leur propre pharmacopée (comme la Pharmacopée américaine, USP).

La Pharmacopée Européenne est un ouvrage de référence pour les pharmaciens industriels. Elle établit les règles et restrictions à suivre lors de la fabrication ou du contrôle des produits destinés à l'usage humain grâce à des spécifications communes reconnues. Ces spécifications participent à la protection de la santé publique et ne sont que les exigences minimales requises par l'union européenne pour vérifier la qualité de la matière ou du médicament concerné.

Chaque édition de la Pharmacopée, numérotée X.0, a une durée de validité de 3 ans. Non seulement cela, mais 3 mises à jour sont publiées chaque année sous la forme d'une annexe numérotée X.1, X.2 etc...., La 10<sup>e</sup> Édition de la Ph Eur. A été publiée en juillet 2019 et sera complétée par huit suppléments périodiques (10.1 à 10.8) au cours des trois années suivantes. La version actuelle est la 10.7, valable du 01.05.2022 au 31.06.2022 [35].

La Pharmacopée Européenne est composée de monographies, aussi bien générales que spécifiques, dont nous détaillerons les différences ci-dessous, dont la majeure partie est composée des normes de qualité, qui figurent dans ces monographies et dans les sections sur les méthodes générales. Les normes de qualité contiennent des méthodes analytiques pour identifier la substance et évaluer sa qualité et sa force quantitative. La partie la plus importante d'une norme de qualité d'un principe actif est peut-être bien la section sur les impuretés [36].

#### III.1.1 Prescriptions réglementaires concernant les impuretés :

Les prescriptions générales servent de trame regroupant les résultats à fournir afin d'apporter la preuve que la matière considérée puisse être libérée comme conforme aux prescriptions de la Pharmacopée Européenne. En titre d'impuretés elles peuvent se présenter sous la forme d'une monographie, telle que *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*, ou bien comme un chapitre entier, tels que *5.10. Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique* ou encore *5.4. Solvants résiduels*.

Nous détaillerons les différents éléments de ces prescriptions à titre d'exemple.



### A. Substances pour usage pharmaceutique (2034) :

La monographie *Substances pour usage pharmaceutique (2034)* prescrit les exigences du domaine d'application. Elle nous renseigne également sur les monographies générales de produits étant soumis à d'autres spécifications, tels que, par exemple, les drogues végétales, les extraits, les teintures mères pour préparations homéopathiques.

De plus, elle fournit des informations sur certains paragraphes des monographies spécifiques, tels que ceux relatifs à l'identification, aux caractéristiques, aux essais, au dosage et à l'étiquetage. La partie relative aux essais est assez développée du fait qu'elle passe en revue un certain nombre de catégories d'essais. Cette monographie définit les essais devant être réalisés pour vérifier que la substance est conforme à la Pharmacopée Européenne, malgré l'absence de monographie spécifique [37].

Pour les essais d'impuretés, la présente monographie précise :

- Les exigences relatives à la qualification, l'identification et la déclaration des impuretés organiques intitulé « **Substances apparentées** » éventuellement présentes dans les *substances actives*, ces exigences sont complémentaires avec les monographies spécifiques qui précisent les critères d'acceptation de ces derniers.
- Les chapitres et directives qui s'appliquent aux impuretés élémentaires, et qui définies leur valeurs d'exposition journalière admissible (par exemple celles figurant dans le guideline ICH Q3D, dont les principes sont repris dans le chapitre général 5.20. Impuretés élémentaires de la Ph Eur).
- Les chapitres qui définies les principes permettant d'établir des limites en solvants résiduels, dont le chapitre 5.4. Solvants résiduels, soit par des méthodes générales citées dans le Chapitre **2.4.24 de Ph Eur**, ou une autre méthode appropriée.

### B. Chapitre 5.10. Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique :

Ce chapitre n'existe dans la Pharmacopée Européenne que depuis l'édition 5.0. Auparavant, il existait des prescriptions de contrôle des impuretés, cependant celles-ci ne faisaient pas l'objet d'une monographie générale.

Ces prescriptions apportent des compléments d'information concernant l'essai des « **Substances apparentées** » exigé dans la plupart des monographies spécifiques.



Une aide à l'interprétation des résultats en terme d'impuretés est également développée dans ce chapitre en complément de la monographie spécifique de la substance active considérée. Cette aide se présente aussi bien sous la forme d'un « arbre de décision relatif à l'interprétation des critères généraux d'acceptation pour les « autres » impuretés dans les monographies » fourni à l'**annexe 1.Figure A**, que sous la forme d'un glossaire rassemblant les termes appropriés pour définir les diverses catégories de ces « autres impuretés », tels que « autres impuretés décelables », « impureté non spécifiée », « impureté potentielle » ... etc.

Ce texte souligne également la nécessité, si besoin, d'identifier et de qualifier une impureté détectée ne faisant pas partie des impuretés spécifiées dans la monographie spécifique. De même, si aucun essai de substances apparentées n'est présent dans la monographie considérée, l'utilisateur doit s'assurer que le contrôle des impuretés organiques est satisfaisant, et le cas échéant, développer une méthode d'analyse pertinente tout en demandant une révision de la monographie mise en cause.

De la même façon, lors d'un essai de substances apparentées, s'il apparait une impureté non spécifiée ou non décrite dans la monographie spécifique de la substance active, il convient tout de même de la déclarer, l'identifier ou la qualifier, en fonction de sa concentration et des limites décrites dans le tableau 11 [37].

**Tableau 15 : Déclaration, identification et qualification des impuretés organiques**

Utilisation	Dose maximale journalière	Seuil de déclaration	Seuil d'identification	Seuil de qualification
Usage humain ou usage humain et vétérinaire	$\leq 2$ g/jour	$> 0,05$ p.cent	Soit $> 0,10$ p.cent, soit $> 1,0$ mg/jour, en prenant le plus petit des deux	Soit $> 0,15$ p.cent, soit $> 1,0$ mg/jour, en prenant le plus petit des deux
Usage humain ou usage humain et vétérinaire	$\geq 2$ g/jour	$> 0,03$ p.cent	$> 0,05$ p.cent	$> 0,05$ p.cent
Usage vétérinaire uniquement	Non applicable	$> 0,10$ p.cent	$> 0,20$ p.cent	$> 0,50$ p.cent



### C. Chapitre 5.4. Solvants résiduels :

Ce chapitre 5.4 *Solvants résiduels* a pour objectif de limiter les taux de solvants résiduels dans les substances actives, les excipients et les médicaments. Ce chapitre fournit des informations sur la définition d'un solvant résiduel, les taux maximums acceptables afin d'exclure tout risque pour la santé humaine, et les différentes méthodes de calcul de ce taux de solvant résiduel.

En premier lieu, ce chapitre détermine 3 classes de solvants, en fonction de leur toxicité et leurs risques sur la santé humaine comme indiqué dans le chapitre II .1.1.

Il existe une quatrième classe de solvants : ceux qui manquent de données toxicologiques et ne permettent pas de doser l'EJA. Lors de leur utilisation, le fabricant doit fournir des informations et justifications relatives sur la teneur résiduelle de ces solvants dans les produits à usage pharmaceutique.

Chaque solvant a une Exposition Journalière Admissible (EJA) qui lui est propre et qui reflète son niveau de toxicité. Ce terme d'EJA est la nouvelle expression consacrée par ce chapitre, qui correspond à la dose de solvants résiduels admissible du point de vue de l'usage pharmaceutique.

#### ✓ *Méthodes permettant d'établir les limites d'exposition :*

Les limites (EJA) ont été définies grâce à deux méthodes différentes, selon qu'il s'agisse de solvants de classe 1 ou de classe 2. Les données de toxicité ayant permis l'établissement de ces valeurs ont été publiées dans *Pharmeuropa*, volume 9, n°1, supplément du mois d'avril 1997.

Pour les solvants de classe 1, la méthode employée est celle de Gaylor-Kodell (*Gaylor, D.W. and Kodell, R.L. : Linear interpolation algorithm for low dose assessment of toxic substance. J ; Environ. Pathology, 4, 305, 1980*). Pour ce faire, des données carcinogènes fiables ont permis de justifier une extrapolation par application de modèles mathématiques en les combinant à des facteurs de sécurité élevés.

Pour les solvants de classe 2, les limites ont été définies selon les procédés permettant d'établir les limites acceptables aux produits d'usage pharmaceutique (*Pharmacopeial Forum, Nov-Dec 1989*) et la méthode adoptée par l'IPCS pour l'évaluation du risque présenté par les substances chimiques (*Assessing Human Health Risk of Chemicals - Environmental Health Criteria 170, WHO, 1994*) [38].

#### ✓ *Description des limites des solvants de classe 2 :*



Pour vérifier le respect des taux limites de solvants résiduels de classe 2, il existe deux options légèrement différentes.

### **Option 1 :**

Utilisée si la dose journalière est inconnue, variable ou inférieure à 10 g, repose sur l'utilisation de l'exposition journalière admissible (EJA) d'après la formule suivante :

$$\text{concentration (ppm)} = \frac{1000 \times EJA}{\text{dose}}$$

En prenant un traitement administré à 10g/jour comme référence, avec EJA en mg/jour et dose en g/jour.

Il s'agit simplement de vérifier que chaque constituant du médicament, ainsi que le médicament lui-même, répond aux limites de concentration en ppm fournies dans le tableau des solvants de classe 2. Si l'ensemble des excipients et des substances actives d'une formulation satisfait aux limites de l'option 1, ces composants peuvent être utilisés dans n'importe quelles proportions.

### **Option 2 :**

Doit être forcément employée si la dose journalière est supérieure à 10 g, il n'est pas nécessaire que chaque composé satisfasse aux limites de l'option 1, mais la somme totale des teneurs résiduelles en un solvant donné dans une formulation, doit être inférieure à l'EJA.

A ce titre, la Pharmacopée Européenne propose les deux exemples retranscrits ci-après (Edition 7.0, tome 1, page 634-635)

Considérons l'application des options 1 et 2 à l'acétonitrile contenu dans un médicament. L'exposition journalière admissible est de 4,1 mg/jour, par conséquent la limite préconisée par l'option 1 est de 410 ppm. La quantité maximale de médicament administré par jour est de 5,0 g et ce médicament contient deux excipients. La composition du médicament et le calcul de la teneur maximale en acétonitrile résiduel sont indiqués dans le tableau suivant :



**Tableau 16 : Exemple 01 d'application des options avec acétonitrile.**

<i>Composant</i>	<i>Quantité dans la formulation</i>	<i>Teneur en acétonitrile</i>	<i>Exposition Journalière</i>
<i>Substance active</i>	0,3 g	800 ppm	0,24 mg
<i>Excipient 1</i>	0,9 g	400 ppm	0,36 mg
<i>Excipient 2</i>	3,8 g	800 ppm	3,04 mg
<i>Médicament</i>	5,0 g	728 ppm	3,64 mg

L'excipient 1 satisfait à la limite imposée par l'option 1, mais la substance active, l'excipient 2 et le médicament ne répondent pas aux exigences de cette limite. Néanmoins, le médicament satisfait à l'option 2 (4,1 mg par jour) et par conséquent aux recommandations contenues dans cette note explicative.

Considérons un second exemple d'acétonitrile résiduel. La quantité maximale d'un médicament administrée par jour est de 5,0 g et ce médicament contient deux excipients. La composition du médicament et le calcul de la teneur maximale en acétonitrile résiduel sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau 17 : Exemple 02 d'application des options avec acétonitrile**

<i>Composant</i>	<i>Quantité dans la formulation</i>	<i>Teneur en acétonitrile</i>	<i>Exposition Journalière</i>
<i>Substance active</i>	0,3 g	800 ppm	0,24 mg
<i>Excipient 1</i>	0,9 g	2000 ppm	1,80 mg
<i>Excipient 2</i>	3,8 g	800 ppm	3,04 mg
<i>Médicament</i>	5,0 g	1016 ppm	5,08 mg

Dans ce cas, il apparaît que par la sommation des teneurs de chaque constituant, le médicament ne respecte ni la limite de l'option 1, ni celle de l'option 2. Le fabricant peut alors analyser le médicament en vue de déterminer si le procédé de fabrication du médicament a permis de réduire le taux d'acétonitrile. Si le taux d'acétonitrile n'a pas été ramené à la limite autorisée au cours de la fabrication, il appartient au fabricant d'engager d'autres mesures pour réduire la quantité d'acétonitrile contenue dans le médicament. Si toutes ces opérations ne permettent toujours pas de réduire le taux de solvant résiduel, le fabricant peut, à titre exceptionnel, faire état des mesures qu'il a prises en vue de réduire le taux de solvant jusqu'à la limite préconisée et fournir une analyse



évaluant les risques et les bénéfices en faveur de l'utilisation d'un médicament dont la teneur en solvant résiduel est supérieure à la limite autorisée.

✓ ***Procédures analytiques :***

Les taux de solvants résiduels doivent de préférence être déterminés à l'aide des procédures harmonisées décrites dans les pharmacopées. Pour la Pharmacopée Européenne, elle est décrite dans la monographie n°20424, intitulée 2.4.24. Identification et contrôle des solvants résiduels, avec, en plus du protocole opératoire complet, des chromatogrammes types obtenus avec les solutions témoins proposées.

Dans le cas où la mise en œuvre de cette technique serait impossible, la Ph Eur laisse la possibilité aux fabricants d'utiliser une méthodologie de contrôle interne dont la validation est en accord avec les guidelines ICH suivantes : Text on Validation of Analytical Procedures d'une part, et Extension of the ICH Text on Validation of Analytical Procedures d'autre part [39].

Pour ce qui est des solvants de classe 3, aucune étude sur une éventuelle toxicité à long terme n'a été menée, cependant, les études de toxicité aiguë et à court terme ont montré qu'ils étaient fortement moins toxiques que les solvants de classe 2, et qu'ils n'avaient aucun effet de génotoxicité prouvé. Une limite admissible arbitraire a donc été fixée à 50mg/jour, soit 0,5% (ou 5000 ppm). Cette limite élevée ainsi que la faible toxicité de ces solvants permettent, en cas de présence de solvants de classe 3 uniquement, de n'effectuer qu'un essai non spécifique tel que la perte à la dessiccation.

✓ ***Déclaration de conformité des limites en solvants résiduels :***

Pour se conformer aux réglementations imposées dans ce chapitre, les fournisseurs de produits pharmaceutiques doivent connaître les taux de solvants résiduels dans les différents produits (excipients ou substances actifs) dont ils ont besoin. Pour ce faire, le fabricant de la matière première doit indiquer la classe des solvants résiduels « susceptibles d'être présents », ou le cas échéant, les solvants de classe 2 et 3 en même temps.

Les solvants susceptibles d'être présents dans le produit ( qui non seulement correspondent à des solvants utilisés durant la dernière étape de production de la substance en question, mais également à des solvants intervenant à n'importe quel moment de la fabrication et non éliminés systématiquement par une méthode validée ) doivent tous être au moins nommés par le fabricant si leur(s) taux respecte(nt) les conditions de l'option 1 pour les solvants de classe 2, ou si leur(s) taux est (sont) inférieur(s) ou égal (égaux) à 0,5% pour les solvants de classe 3. Si un solvant de



classe 2 ne répond pas aux conditions de l'option 1, ou si un solvant de classe 3 est présent en quantité supérieure à 0,5%, il doit être identifié et quantifié.

### III.2 La Conférence internationale sur l'harmonisation l'ICH :

La Conférence internationale sur l'harmonisation (ICH) est un projet qui réunit les organismes de réglementation de l'Europe, du Japon et des États-Unis ainsi que des professionnels du domaine pharmaceutique de ces trois zones pour discuter les aspects scientifiques et techniques de l'enregistrement des médicaments.

L'ICH a pour objectif de réduire la nécessité de répéter les tests effectués au cours de la phase de recherche et de développement.

Les tests effectués au cours de la recherche & développement de nouveaux produits pharmaceutiques en suggérant des moyens d'atteindre une plus grande harmonisation dans l'interprétation et l'application des directives techniques et de la réglementation.

L'harmonisation conduirait à une utilisation plus frugale des ressources humaines, animales et matérielles, et à l'évacuation des retards inutiles dans le développement et la disponibilité de nouveaux produits pharmaceutiques à l'échelle mondiale, tout en maintenant les garanties de qualité, de sécurité et d'efficacité, afin de protéger la santé publique [40].

#### III.2.1 L'évolution de l'ICH :

Depuis la création de la ICH en 1990, son processus a évolué pas à pas. Les 10 premières années de l'ICH ont vu des progrès substantiels dans l'élaboration des lignes directrices tripartites sur la sécurité, la qualité et l'efficacité (QSEM).

Des travaux ont également été entrepris sur un certain nombre de sujets multidisciplinaires importants, qui ont admis MedDRA (Medical Dictionary pour les activités réglementaires) et le CTD (Common Technical Document).

Comme deuxième ténor, l'exploitation des directives de l'ICH Guidelines s'est poursuivie, mais en accordant plus d'attention à la nécessité suivante :

- Maintenir les lignes directrices déjà présentes alors que au fur et à mesure que la science et la technologie se développent.
- Développer la communication et la diffusion des d'information sur les lignes directrices de l'ICH avec les régions est devenu un objectif clé.
- Assurer la mise en œuvre des lignes directrices de l'ICH dans ses régions.

En entrant dans sa troisième décennie d'activité, l'attention de l'ICH est dirigée vers la poursuite des bénéfices de l'harmonisation en dehors de ses régions. La formation et la participation active



des régions non ICH à l'exploitation des lignes directrices sont considérées comme la clé de cet effort.

### III.2.2 ICH guideline et directives :

Les directives de l'ICH sont principalement classées en quatre catégories, à savoir :

#### 1. Les directives de qualité :

Comprennent des étapes importantes telles que la réalisation d'études de stabilité, la détermination des seuils pertinents pour les tests d'impuretés et une approche plus souple de la qualité pharmaceutique basée sur la gestion des risques liés aux bonnes pratiques de fabrication (BPF).

#### 2. Directives de sécurité :

ICH a préparé un ensemble complet de directives de sécurité pour révéler les risques potentiels tels que la cancérogénicité, la reprotoxicité et la génotoxicité.

#### 3. Lignes directrices en matière d'efficacité :

Les lignes directrices sur l'efficacité portent sur la conception, la réalisation, la sécurité et le rapport des essais cliniques. Elles donnent également des informations concernant les nouveaux types de médicaments dérivés de méthodes biotechnologiques et l'utilisation de techniques de pharmaco-génomique pour produire des médicaments mieux ciblés.

#### 4. Directives multidisciplinaires :

Ces directives contiennent des sujets qui sont uniques, et qui n'entrent pas dans l'une des catégories Qualité, sécurité et efficacité.

Lignes directrices multidisciplinaires décrit le document technique commun (CTD), la terminologie médicale (MedDRA).

Les quatre normes ICH Q3 relatives aux impuretés sont les suivantes [2] :

- **Q3A « Impurities in New Drug Substances »:**

La présente guideline ICH établit des recommandations pour la caractérisation et la qualification des impuretés dans les nouvelles substances actives produites par synthèse chimique.

Le terme « nouvelle substance active » englobe toute molécule d'intérêt thérapeutique (molécule, entité chimique, sels, ...) qui n'a pas été enregistré auprès des autorités compétentes des Etats Membres.

La guideline s'intéresse aux impuretés inorganiques, organiques et les solvants résiduels, mais exclue tous les contaminants qui devraient être maîtrisés par l'application des BPF



- **Q3B « Impurities in New Drug Products »:**

La guideline ICH Q3B complète la guideline ICH Q3A précédemment citée. La guideline s'intéresse aux impuretés dans les nouveaux produits médicamenteux : c'est-à-dire les impuretés classées comme produits de dégradations ou produits résultants d'une interaction avec un excipient et/ou le contenant.

- **Q3C « Impurities: Guideline for Residual Solvents »:**

L'objectif de cette guideline est d'assurer la sécurité des patients en recommandant des niveaux acceptables de solvants résiduels dans les médicaments.

La présente norme établit les teneurs limites de solvants résiduels dans les médicaments en se basant sur l'évaluation des données de sécurité. Ainsi la directive ICH Q3C classe les solvants résiduels en trois catégories, selon leur risque toxicologique pour l'homme :

1. solvants résiduels de classe 1 à éviter : Ce sont les solvants cancérogènes (ou soupçonnés de l'être) chez les humains et qui présentent un risque pour l'environnement.
2. solvants résiduels de classe 2 à limiter : Ce sont les solvants soupçonnés d'avoir d'autres effets toxiques importants, mais réversibles.
3. solvants résiduels de class 3 : à faible potentiel toxique.

- **Q3D « Guideline for Elemental Impurities »:**

La guideline ICH Q3D s'attache à limiter le niveau d'impuretés élémentaires dans les médicaments, en introduisant la notion de seuil limite d'exposition et d'analyse de risque.

Le guideline ICH (International Conférence on Harmonisation) Q3D établit la méthodologie pour l'évaluation des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques, dont les médicaments à usage humain.

La maîtrise des impuretés élémentaires est devenue aujourd'hui un enjeu supplémentaire dans la caractérisation d'un produit pharmaceutique. Le guideline ICH Q3D, applicable depuis juin 2016 pour les nouveaux produits et depuis décembre 2017 pour les produits existants, propose un processus de contrôle et d'analyse de risque de contamination.

L'ICH Q3D reporte 4 classes d'impuretés élémentaires, en fonction de leur impact toxicologique et de leur potentielle présence dans le produit pharmaceutique. La Directive ICH Q3D mentionne une première phase destinée à l'évaluation préliminaire (risk assessment) soit sûr données documentaires, soit par une étape analytique de criblage en laboratoire (analytique qualitative et semi-quantitative screening, analyse quantitative ou dosage des impuretés élémentaires par ICP-AES et ICP-MS).



En fonction des résultats et la considération du seuil acceptable (30% du EJA), des plans de contrôles peuvent être mis en place et les Méthodes analytiques validées selon la Pharmacopée Américaine USP 233. ICH Q3D préconise une évaluation du risque lié à la présence d'impuretés élémentaires dans les produits de santé. Pour cela, la toxicité de l'impureté mais aussi la voie d'administration du produit contaminé, doit être prises en compte.

La ligne directrice est divisée en trois parties :

- L'évaluation des données de toxicologie pour chaque impureté élémentaire potentielle
- Le calcul de l'EJA (l'exposition journalière admissible) acceptable pour l'utilisateur, pour chaque impureté.
- L'analyse du risque pour contrôler les impuretés élémentaires.

Compte tenu de l'importance de la ligne directrice Q3B, qui fait référence aux trois types d'impuretés dans le nouveau produit médicamenteux, nous nous sommes intéressés aux documents relatifs à cette ligne directrice.

### III.2.3 La directive Q3B :

La présente ligne directrice fournit des recommandations à l'égard des demandes d'homologation, sur le contenu et la qualification d'impuretés dans les nouveaux produits fabriqués à partir de nouvelles substances médicamenteuses synthétiques jamais auparavant homologuées dans une région ou un État membre [14].

#### III.2.3.1 Déclaration du contenu des produits de dégradation des lots:

- Les résultats d'analyse doivent être fournis dans la demande d'enregistrement pour tous les lots pertinents du nouveau produit pharmaceutique utilisés pour les tests cliniques, d'innocuité et de stabilité, ainsi que pour les lots représentatifs du processus commercial proposé.
- Les résultats quantitatifs doivent être présentés sous forme numérique, et non en termes généraux tels que "conforme", "respecte les limites", etc.
- Tout produit de dégradation à un niveau supérieur au seuil de déclaration, et le produit de dégradation total, doivent être signalés selon les procédures analytiques indiquées.
- Au-dessous de 1,0%, les résultats doivent être rapportés avec le nombre de décimales (ex : 0,06%) du seuil de déclaration applicable, au-dessus de 1,0%, les résultats doivent être rapportés avec une décimale (ex 1,3%) [41].

Les seuils de déclarations sont cités dans le tableau 5.



### III.2.3.2 Enumération des produits de dégradation dans les spécifications:

Les spécifications d'un nouveau produit de dégradation doivent comprendre les éléments illustrées dans la figure ci-dessous [2].

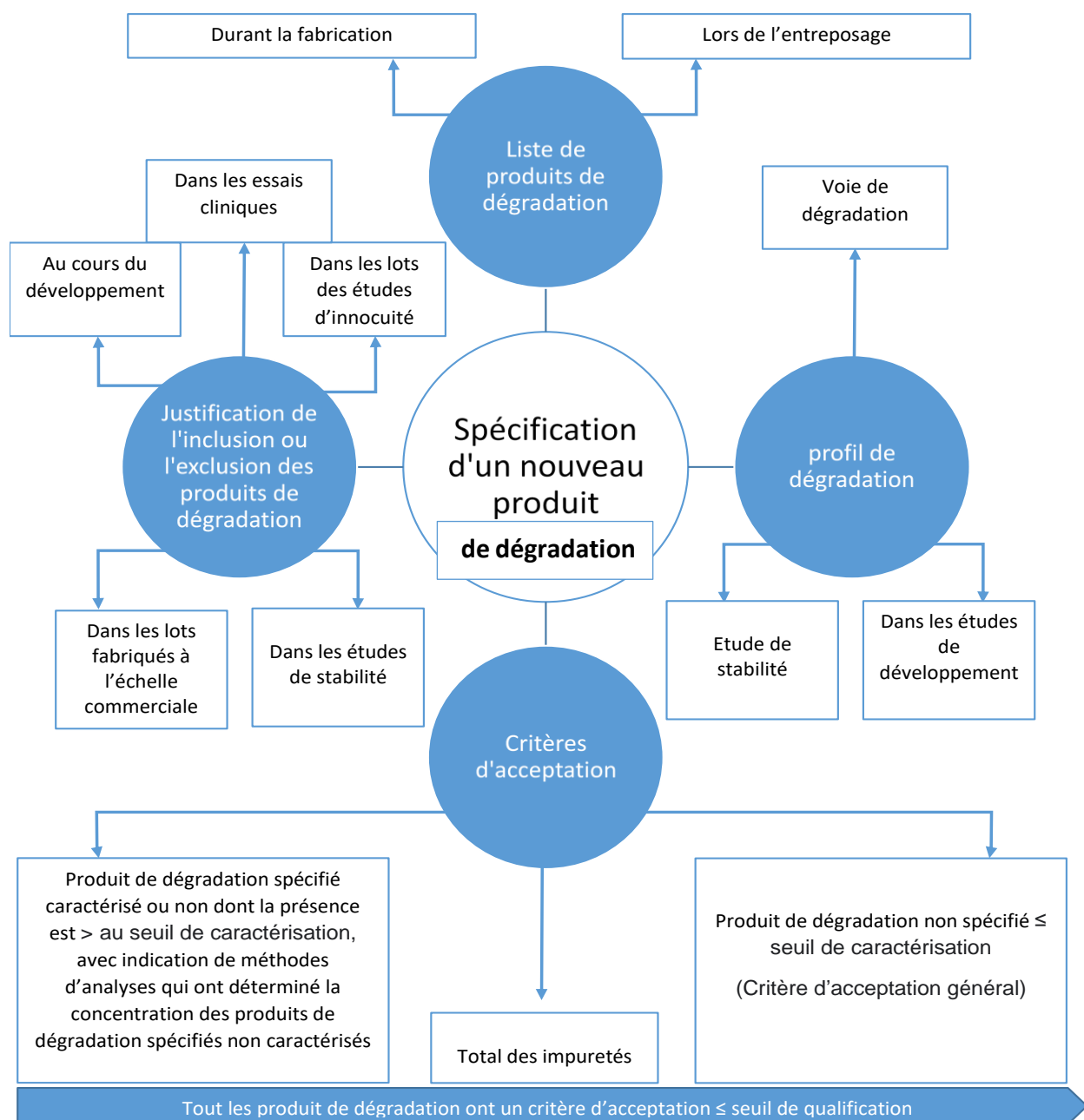


Figure 11 : Les spécifications d'un nouveau produit selon la directive Q3B de l'ICH



### III.2.4.2 Qualification des produits de dégradation :

La qualification est le processus d'acquisition et d'évaluation des données qui établissent la sécurité biologique d'un produit de dégradation individuel ou d'un profil de dégradation donné au niveau spécifié [42].

Le niveau d'une impureté présente dans une nouvelle substance médicamenteuse qui a été testée de manière adéquate dans le cadre d'études de sécurité et/ou d'études cliniques serait considéré comme qualifié.

L'arbre de décision pour l'identification et la qualification décrit les considérations pour la qualification des impuretés lorsque les seuils sont dépassés.

Les études d'évaluation de l'innocuité visant à qualifier une impureté doivent comparer la nouvelle substance médicamenteuse contenant une quantité représentative de la nouvelle impureté à une substance précédemment qualifiée.

Des études d'évaluation de la sécurité utilisant un échantillon de l'impureté isolée peuvent également être envisagées [43].

Les seuils de qualification sont indiqués dans le tableau 5.



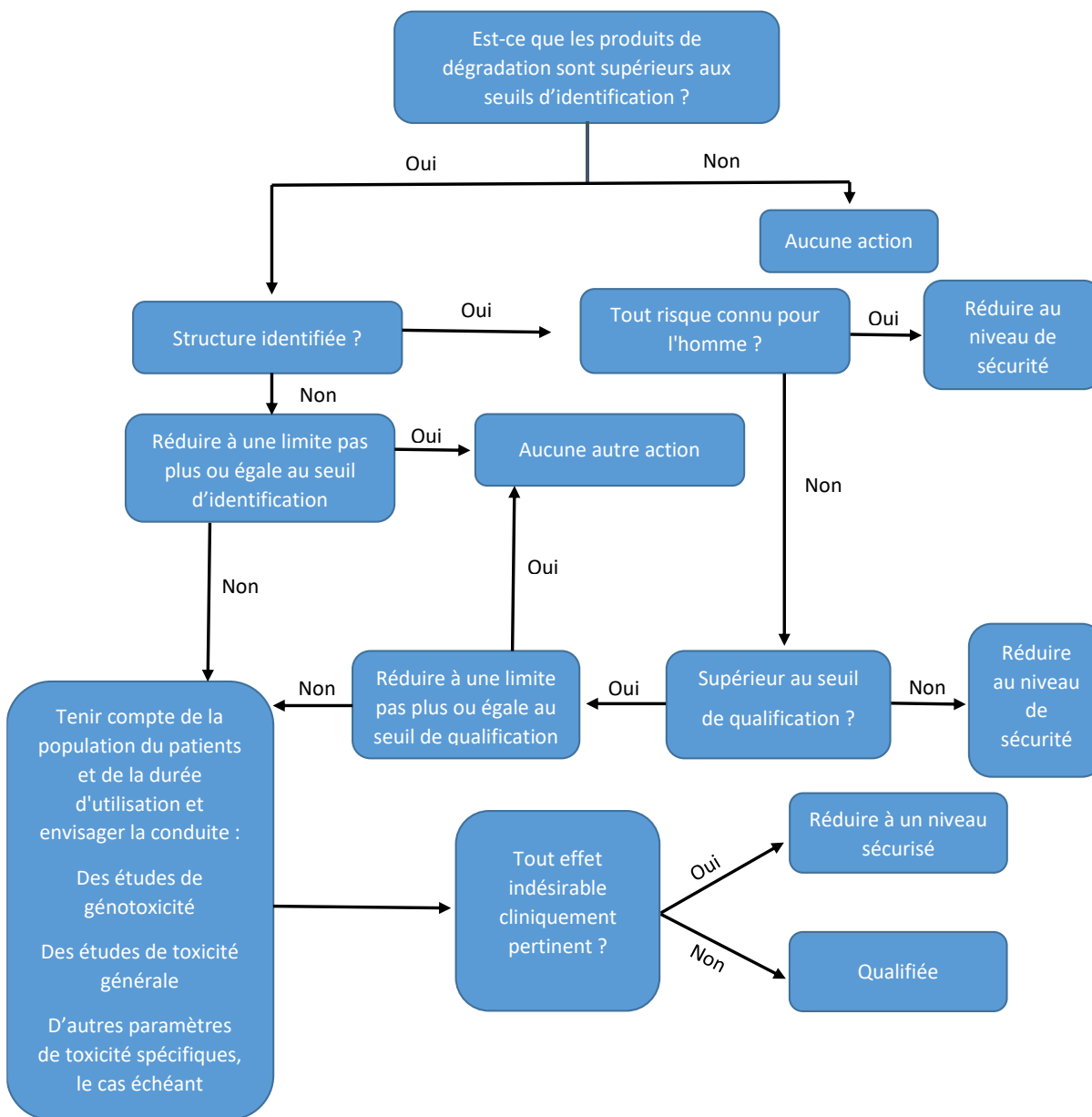


Figure 12 : Arbre de décision pour l'identification et la qualification d'un produit de dégradation.



**CHAPITRE IV: METHODES ANALYTIQUES APPLIQUEES  
AUX ESSAIS DES IMPURETES**



Lors de la vente d'un produit pharmaceutique, le fabricant doit s'assurer que son produit est conforme aux réglementations et spécifications en vigueur concernant les impuretés dans les médicaments. C'est dans ce cadre que des essais d'identification et de dosage des différentes impuretés pharmaceutiques sont réalisées.

Dans ce chapitre nous avons abordé les techniques analytiques recommandés par la pharmacopée et des guides de l'ICH. Dont Les normes de chaque impureté doivent prendre en considération sa classe (organique inorganique ou solvant résiduelles) ou sa toxicité.

Quand il s'agit d'une impureté organique des méthodes spécifiques pour la séparation sont mis en évidence tel que la Chromatographie couche mince (CCM), la chromatographie liquide haute performance (HPLC) et chromatographie phase gazeuse (CPG). Cependant, pour les impuretés de types inorganique tel que les métaux lourds des techniques analytiques permettant leur identification et leurs quantifications seront préconiser ; en citant la spectrométrie d'émission atomique (SEA), la spectrométrie d'absorption atomique(SAA) et plusieurs techniques spectrales. Tandis que l'identification et la détection des solvants résiduels est préconisée par la chromatographie phase gazeuse (CPG).

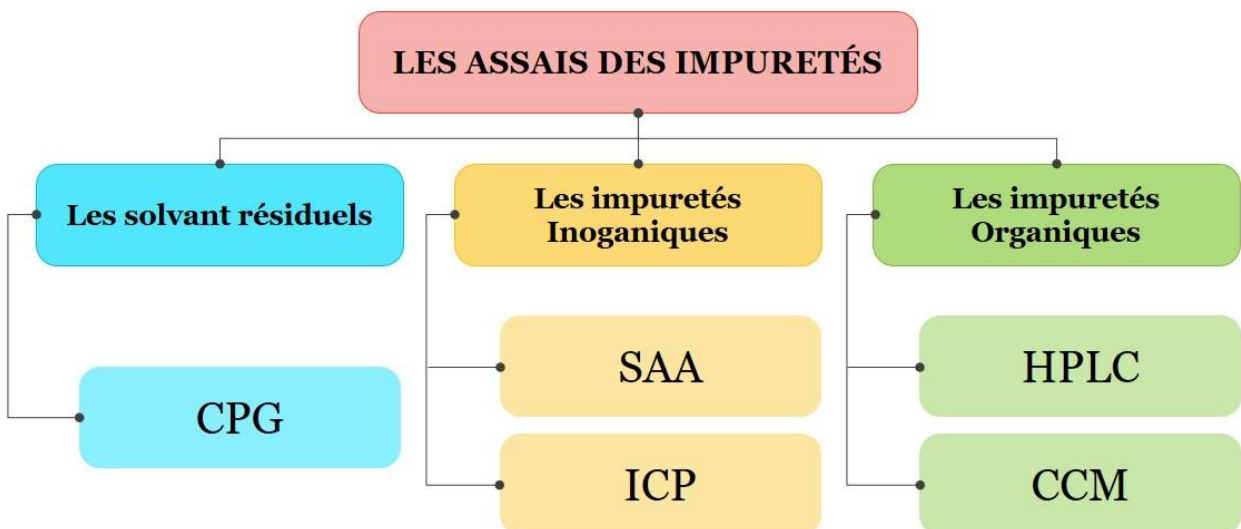


Figure 13 : Schéma des essais des impuretés .



### IV.1 Méthodes chromatographiques :

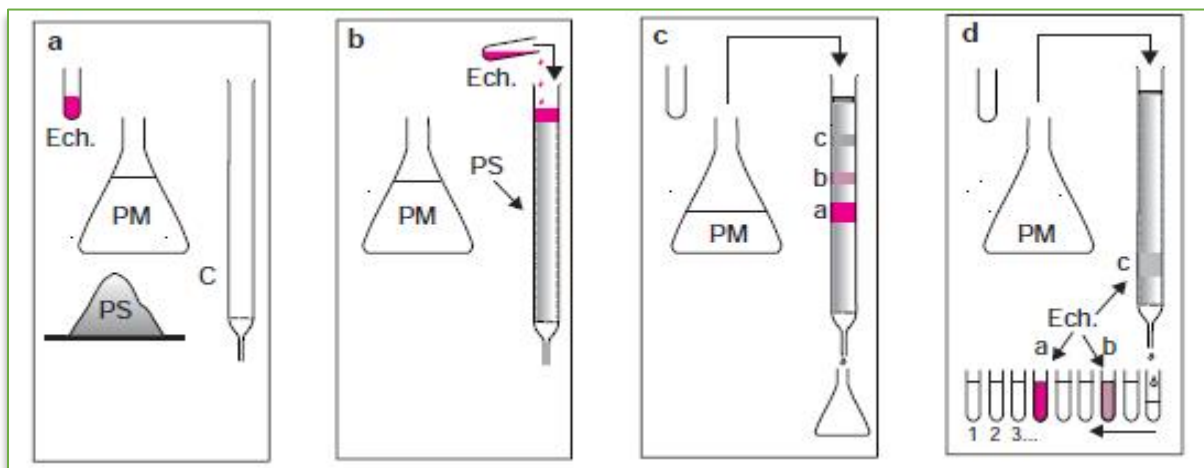
La chromatographie est une méthode de séparation des constituants présents dans des mélanges variés. Elle sert en analyse pour identifier et quantifier des composés au sein d'échantillons divers. Le principe de base repose sur les équilibres de concentration qui apparaissent lorsqu'un composé est mis en présence de deux phases non miscibles.

En chromatographie, la phase dite stationnaire, est emprisonnée dans une colonne ou fixée sur un support et l'autre, dite mobile, se déplace au contact de la première. La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants du mélange. Ces derniers parcourent la phase stationnaire avec des temps proportionnels à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure, ...) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité, ...).

L'expérience de base en chromatographie peut être décrite comme suit (**FIGURE 15**) :

1. On immobilise dans une colonne un solide finement divisé appelé phase stationnaire.
2. On place au sommet de cette colonne un petit volume de l'échantillon à séparer.
3. On force cet échantillon à traverser la colonne de haut en bas au moyen de la phase mobile afin d'entraîner ses divers constituants.

Si les composés présents migrent à des vitesses différentes, ils pourront être recueillis séparément, chacun en solution dans la phase mobile [44].



**Figure 14 :** L'expérience de base en chromatographie. a) Les ingrédients nécessaires C, colonne, PS, phase stationnaire, PM, phase mobile et E, échantillon ; b), le dépôt de l'échantillon ; c) le début de l'élution ; d) la récupération des produits après séparation



On distingue les différentes méthodes chromatographiques selon la nature des phases : [45]

- ❖ **Phase stationnaire** : dans une colonne à travers laquelle progresse la phase mobile par gravité ou sous l'action d'une différence de pression → chromatographie sur colonne. sur une surface plane → chromatographie sur couche mince (CCM).
- ❖ **Phase mobile** : phase qui se déplace sur ou à travers la phase stationnaire, entraînant avec elle l'analyte. Le processus d'entraînement de cet analyte est appelé élution. La phase mobile peut être un liquide (HPLC) ou un gaz (CPG).

#### IV.1.1 Chromatographie à haute performance HPLC :

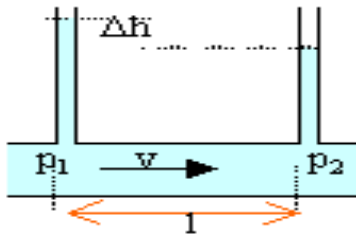
La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est largement utilisée depuis des années comme méthode d'analyse et constitue un outil essentiel pour la séparation et l'analyse des médicaments, pour la surveillance des médicaments, l'assurance qualité et la recherche en sciences de la vie.

Afin de procéder à une évaluation qualitative du composé et à une analyse quantitative des produits pharmaceutiques comme l'aspirine, l'ibuprofène, le paracétamol, les sels comme le chlorure de sodium et le phosphate de potassium, les produits chimiques organiques comme les polymères (par exemple, le polystyrène, le polyéthylène) [46].

##### ❖ Principe et appareillage :

La migration forcée d'une phase liquide au contact d'une phase stationnaire se retrouve dans plusieurs techniques chromatographiques. La particularité de la CLHP est de faire intervenir des mécanismes d'échange soluté/phase mobile/phase stationnaire basés sur les coefficients d'adsorption ou de partage.

L'appareil se compose de plusieurs modules reliés entre eux par l'intermédiaire des colonnes à faible diamètre. L'écoulement des faibles débits obéit à la loi de Poiseuille. La vitesse de la phase mobile est maximum au centre des canalisations et nulle au contact des parois.1



$$q_v = \frac{\pi \cdot r^4}{8 \cdot \eta \cdot \ell} \cdot (p_1 - p_2)$$

$q_v$ : débit-volumique ( $m^3 \cdot s^{-1}$ ),

$r$ : rayon intérieur (m),

$\eta$ : viscosité dynamique du fluide (Pa·s),

$\ell$ : longueur entre les points (1) et (2) (m),

$p_1$  et  $p_2$ : pression du fluide aux points (1) et (2) (Pa).

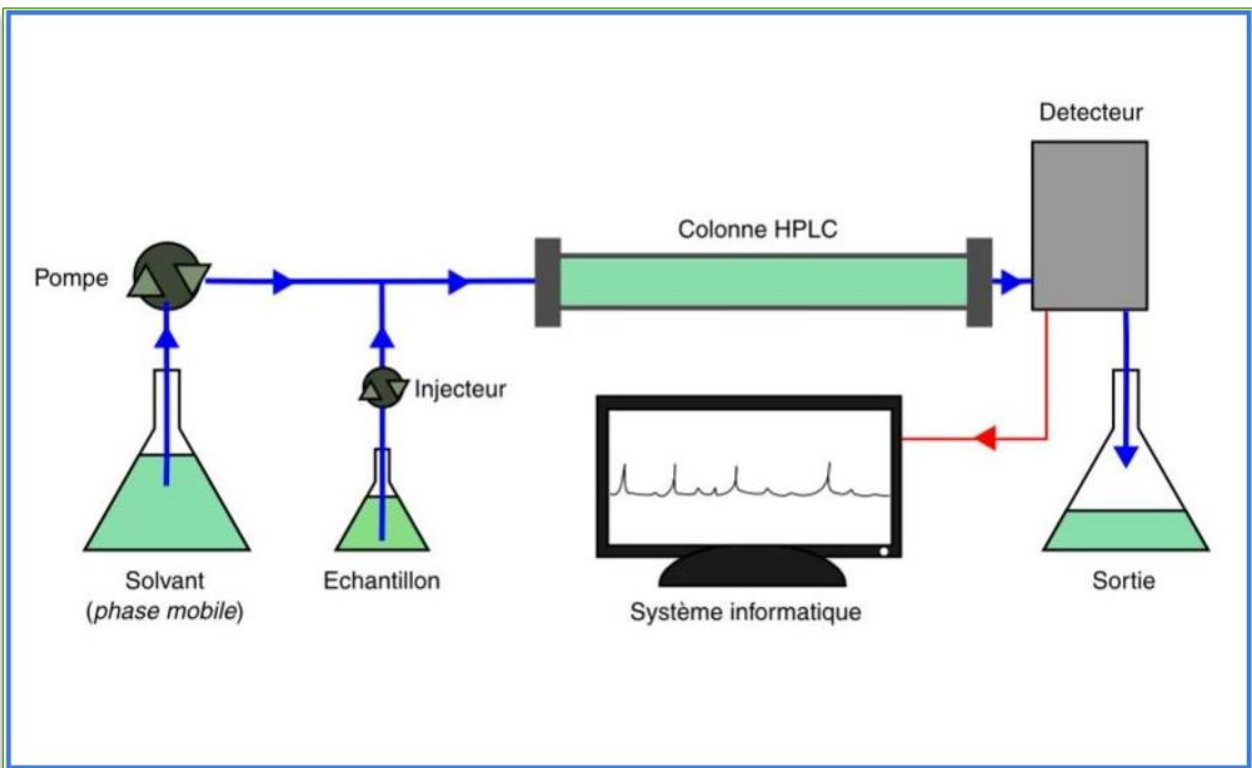


Figure 15 : Les différents composés d'un appareil HPLC

Réservoir de la phase mobile (solvant) :



Le plus souvent ce réservoir est une bouteille en verre dans lequel plonge un tube avec une extrémité filtrante en téflon. S'il est nécessaire le dégazage peut se faire par agitation puis conservation du solvant sous atmosphère d'hélium.

**Pompe :**

Elle délivre en continu la phase mobile. Elle est définie par la pression qu'elle permet d'atteindre dans la colonne, son débit, et la stabilité du flux.

**L'injecteur :**

Le type d'injecteur le plus couramment utilisé comporte une vanne à boucle d'échantillonnage d'une capacité fixe.

Cette boucle permet d'introduire l'échantillon sans modifier la pression dans la colonne. Elle possède 2 positions. La première permet le remplissage de la boucle d'injection de volume fixe (load), la seconde permet la mise en circulation de l'échantillon dans le système chromatographique (inject). Le remplissage de la boucle d'injection se fait à l'aide d'une seringue.

**Colonne :**

En mode analytique, les colonnes en inox ont généralement un diamètre interne de 4,6mm. La longueur est de 5, 10, 15, ou 25cm. Le remplissage (en silice, silice greffée ou particules polymériques) a une granulométrie de 3, 5, ou 10 $\mu$ m. Le diamètre interne d'une colonne est usuellement de 4 ou 4,6 mm. Si des substances pures doivent être collectées en fin de chromatogramme des colonnes de gros diamètre seront nécessaires.

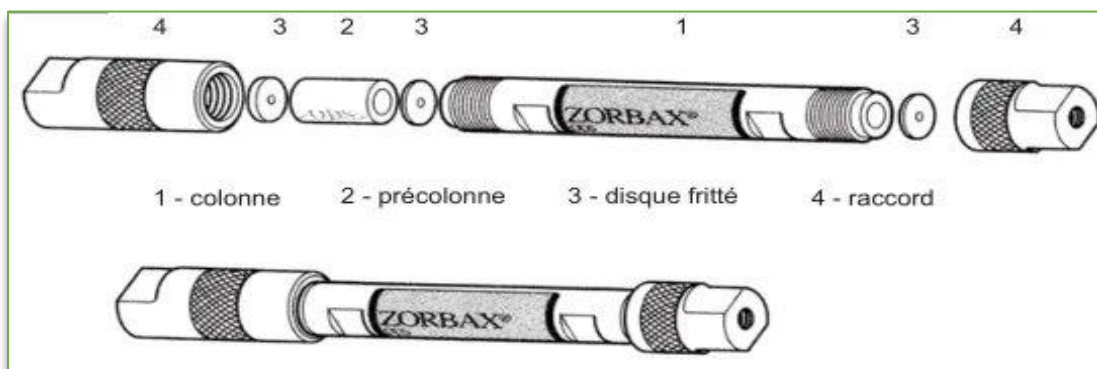


Figure 16 : Schéma illustrant une colonne d'un HPLC

**Détecteur :**

Le détecteur suit en continu l'apparition des solutés. Pour détecter, on utilise différents phénomènes physico-chimiques. Le signal obtenu est enregistré en fonction du temps. Généralement, on compare le signal obtenu pour la phase mobile et le soluté à celui de la phase



mobile seule. Le détecteur le plus utilisé en HPLC est un spectrophotomètre d'absorption UV-visible (190-600 nm) relié à la sortie de colonne.

### **Intégrateur :**

La chromatographie est une méthode de séparation utilisée en vue d'un dosage. Il faut donc avant tout chercher à séparer correctement les pics avant de les intégrer. Une intégration consiste à mesurer la surface sous un pic. La détection d'un pic chromatographique par l'intégrateur, dépend de 2 paramètres : la largeur attendue des pics et le seuil d'intégration (sensibilité).

La largeur de pic est à peu près prévisible en fonctions de la technique d'analyse et des conditions opératoires. Elle détermine la fréquence d'échantillonnage du signal. Le pic est alors découpé en tranches. Le seuil d'intégration est la valeur du signal à partir de laquelle le calculateur repère un début de pic.

### **❖ Intérêt et application : [46]**

- Large domaine d'applications
- Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange.
- Sa grande précision permet la recherche de traces.
- Elle permet de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse

#### ✓ Applications pharmaceutiques :

1. Étude de la dissolution des comprimés de la forme galénique.
2. Contrôle de la stabilité du médicament, détermination de la durée de conservation.
3. Identification des principes actifs.
4. Contrôle de la qualité des produits pharmaceutiques.
5. Dissolution des comprimés de formes pharmaceutiques

#### ✓ Analyse du profilage des impuretés pharmaceutiques :

1. Élucidation de la structure des impuretés avec LC/MS.
2. Recherche rapide de conditions pour le développement de méthodes.
3. Utilisation d'une méthode LC rapide pour un débit d'échantillons plus élevé.
4. Dans le dosage des impuretés, on utilise la chromatographie liquide haute performance HPLC pour le dosage de substances apparentées.

### **IV.1.2 Chromatographie sur couche mince CCM :**





La chromatographie planaire, également connue sous le nom de chromatographie sur couche mince (CCM), est une technique complémentaire de la HPLC, ayant sa propre spécificité. Bien que la mise en œuvre de ces deux techniques soit différente, le principe de la séparation et la nature des phases restent les mêmes.

Méthode sensible, de faible coût, pouvant être automatisée, elle est devenue désormais indispensable sachant aussi qu'il est possible de mener plusieurs séparations en parallèle. L'appareillage actuel permet de maîtriser les trois étapes essentielles : le dépôt de l'échantillon, la migration sur la plaque et la mesure de concentration.

#### ❖ Principe et appareillage : [47]

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés, et la phase stationnaire.

La CCM utilise une phase stationnaire déposée sur une plaque d'aluminium. La phase mobile est entraînée par capillarité vers le haut de la plaque.

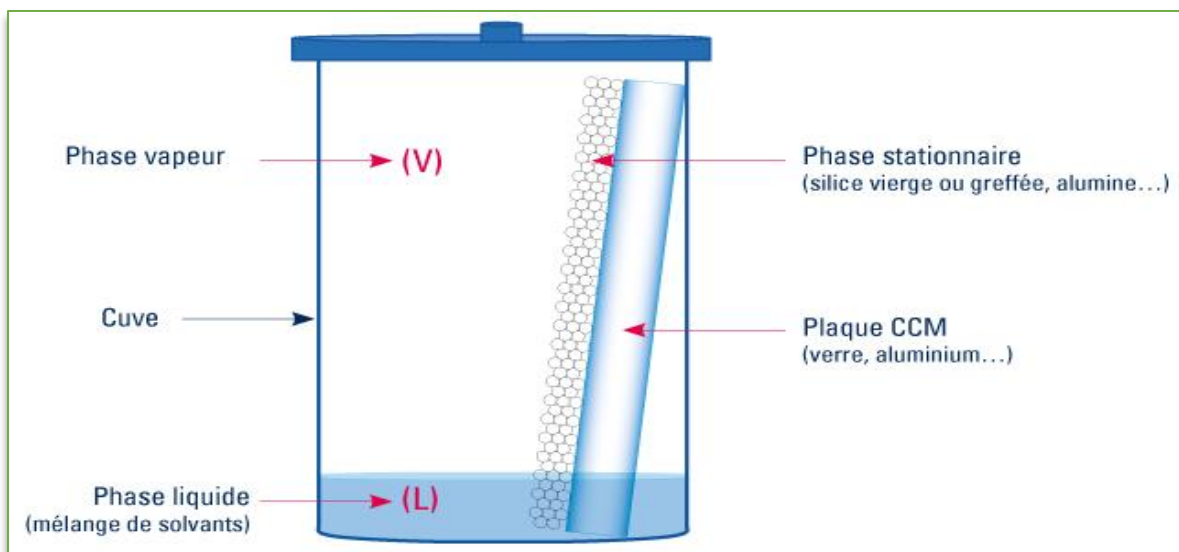


Figure 17 : Schéma illustrant une chromatographie sur couche mince CCM

#### La cuve :

Une cuve de chromatographie se compose de la cuve et d'un couvercle. Le couvercle sert d'une part à éviter l'évaporation du solvant et de réaliser une CCM à atmosphère saturée.

**La plaque chromatographique :**

Est en général constituée de deux parties : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice, fixée à une plaque rigide en aluminium, en plastique ou parfois en verre. La fixation est assurée par un liant qui peut être du sulfate de calcium hydraté, de l'amidon ou un polymère organique

Pour valider une méthode de dosage par CCM il faut non seulement disposer d'un moyen de quantification des taches, mais aussi définir les paramètres habituels (spécificité, étendue du domaine de linéarité, précision...). Dans ce but, la plaque à examiner est déplacée sous l'optique d'un densitomètre (ou scanner) qui mesure soit l'absorption soit la fluorescence à une ou plusieurs longueurs d'onde. Cet appareil conduit à un pseudo-chromatogramme comportant des pics dont on peut mesurer les aires. En CCM il suffit de quelques ng d'un composé absorbant dans l'UV pour former une tache décelable [44].

**❖ Intérêt et application :**

En chromatographie planaire semi-quantitative, les impuretés des échantillons sont estimées visuellement en comparant la surface et l'intensité des taches à celles de quantités connues de substance standard. Bien que de cette manière la quantité d'impuretés puisse être estimée avec une erreur relativement élevée, il est possible de décider avec une grande précision si leur quantité est supérieure ou non à la limite prescrite.

Le test de pureté par chromatographie planaire semi-quantitative est largement utilisé dans les cas où la précision d'une analyse semi-quantitative est suffisante, car il permet une analyse très rapide. En utilisant une seule chromato-plate, l'estimation des impuretés de 4-5 lots peut être effectuée en quelques minutes [47].

**IV.1. 3 Chromatographie en phase gazeuse (GC) :**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) (gas chromatography, GC, en anglais) est une technique de séparation d'un mélange de molécules volatiles très diverses, appelées ici « analytes ». Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est également le seul type de chromatographie qui utilise un gaz comme phase mobile, ce qui nécessite un appareil spécial, appelé communément le chromatographe à gaz .



Selon la phase stationnaire, Il existe deux types de chromatographies en phase gazeuse:

- **Chromatographie gaz-solide (CGS)** : C'est une chromatographie d'adsorption : la phase stationnaire est un solide poreux, réservé à l'analyse de mélanges de gaz ou de liquides à bas points d'ébullitions.
- **Chromatographie gaz-liquide (CGL)** : C'est une chromatographie de partage : la phase stationnaire est un liquide immobilisé sur un support solide par imprégnation ou par greffage [48] .

❖ **Principe et Appareillage:**

La CPG repose sur l'équilibre de partage des analytes entre une phase stationnaire et une phase mobile gazeuse. Le mélange à analyser est vaporisé puis transporté à travers une colonne renfermant une substance liquide ou solide qui constitue la phase stationnaire. Le transport se fait à l'aide d'un gaz inerte, appelé « gaz vecteur », qui constitue la phase mobile, ensuite La séparation des analytes se fait selon la différence d'affinité de ces composés pour les deux phases.

La phase gazeuse qui a traversé la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre. Certains modèles de chromatographes ont une alimentation autonome ainsi qu'une taille réduite pour faciliter l'emploi en milieu extérieur [49].

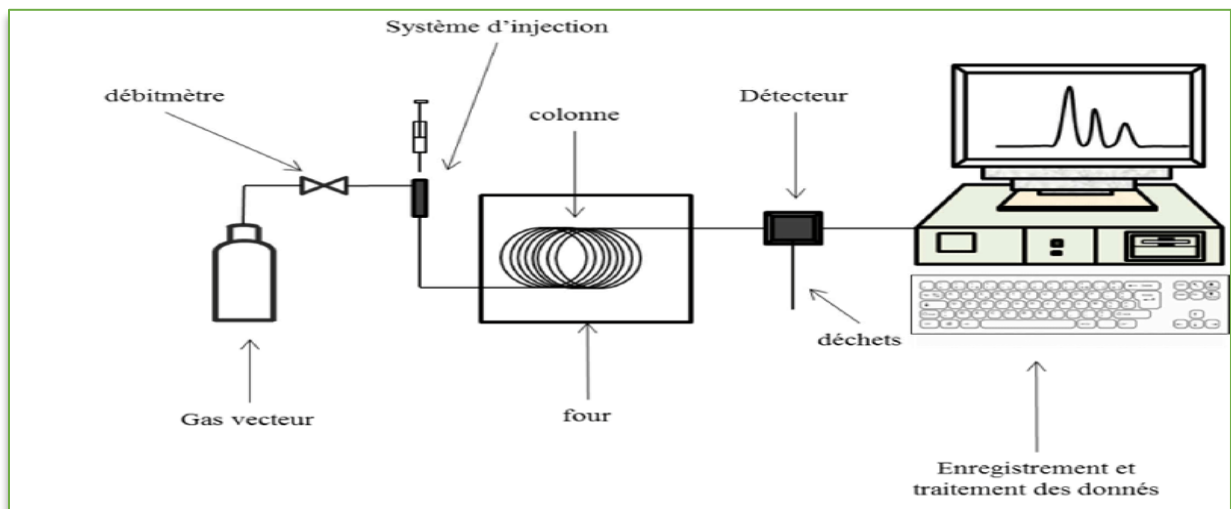


Figure 18 : Schéma d'un appareil de CPG

Quel que soit le chromatographe à gaz, on retrouve toujours les principales composantes suivantes [49] :

**Le gaz vecteur (phase mobile) :**



Le gaz vecteur est le gaz qui circule à l'intérieur du chromatographe, entraînant l'analyte à travers la colonne, de l'entrée au détecteur. Son choix dépend du type de détecteur utilisé, par exemple hélium, azote, argon ou hydrogène. Ils sont livrés dans des bonbonnes surmontées d'un régulateur de pression. Ces gaz doivent être de pureté analytique et de préférence chimiquement inerte, car les impuretés sont responsables des bruits de fond sur le chromatogramme.

### Le système d'injection :

Ce système (Figure 19) permet à la fois l'introduction de l'échantillon dans la colonne du chromatographe, ainsi que la volatilisation des analytes. La température de l'injecteur doit être réglée de manière à entraîner la vaporisation de tous les analytes de l'échantillon : elle est généralement maintenue à 50 °C au-dessus de la température d'ébullition de l'analyte le moins volatil. [49]

Le choix de l'injecteur est dicté par **le type de colonne utilisée** (remplie ou capillaire) et par **la nature des produits à séparer** (leur résistance à la décomposition lorsqu'ils sont soumis à de hautes températures).

### La colonne (phase stationnaire) :

Il existe deux types de colonnes : les colonnes remplies et les colonnes capillaires (**Figure 20**) :

- ❖ **Colonnes remplies (à garnissage) (les plus anciennes) :** Les colonnes remplies ont un diamètre de quelques millimètres et une longueur de l'ordre du mètre. Elles sont remplies de granules de support inerte, généralement de la silice, dont la surface est imprégnée ou greffée avec la phase stationnaire.
- ❖ **Colonnes capillaires :** Les colonnes standard sont en quartz fondu (silice très pure) et entourées d'une gaine de polymère souple, ce qui leur confère une grande résistance à la torsion. Elles ont entre 10 et 100 m de long et leur diamètre intérieur est entre 0,10 ou 0,70 mm. La phase stationnaire est greffée sur les parois de la colonne, l'épaisseur de phase stationnaire varie entre 0,10 mm et 5 mm.

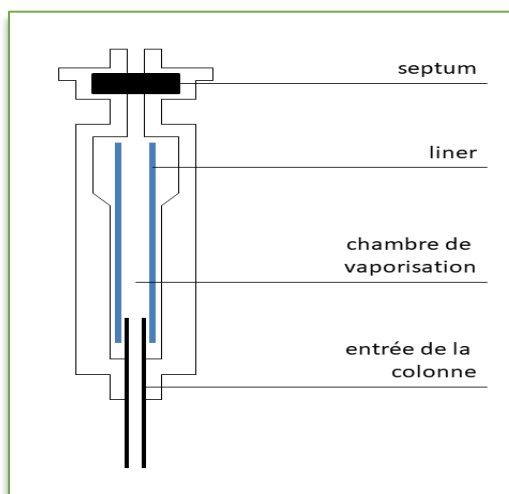
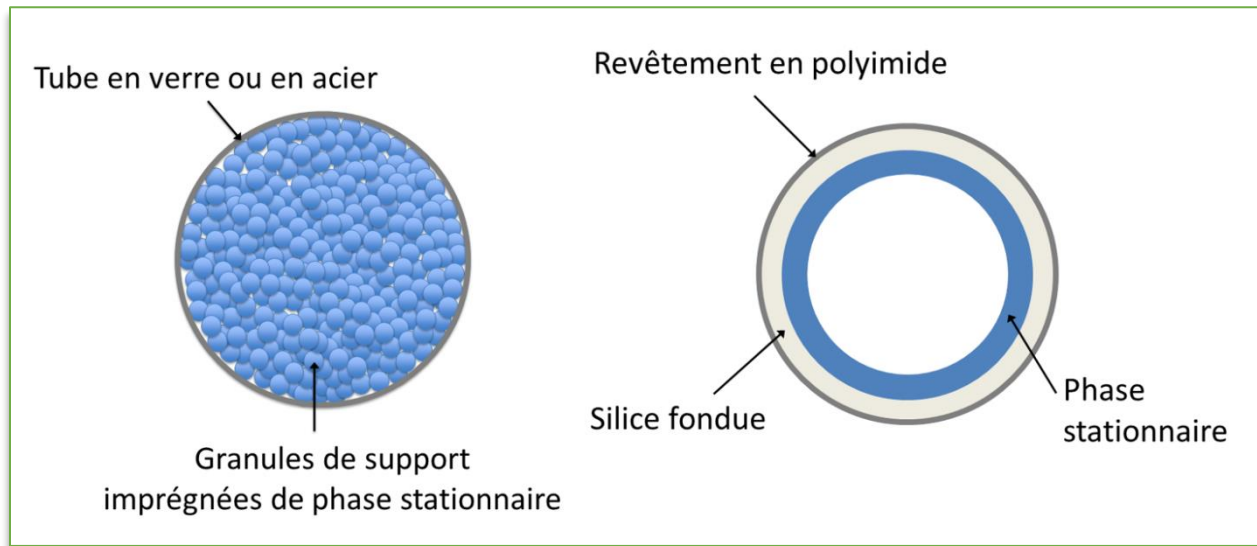


Figure 19 : Schéma d'un injecteur [49]



**Figure 20 : Schéma (en coupe) d'une colonne remplie (à gauche) et d'une colonne capillaire (à droite) [49].**

#### **Le four :**

La colonne est contenue dans un four de type chaleur tournante, dont la température est précisément ajustable (typiquement entre 20 °C et 350 °C) et programmable. Les températures utilisables en pratique dépendent des domaines de stabilité en température de la colonne utilisée, et de ceux des composés analysés.

Une méthode pour laquelle la température est gardée constante tout au long de l'analyse est appelée « **isotherme** ». A l'inverse, on peut choisir d'augmenter la température du four au cours de l'analyse : cette méthode est appelée « **gradient** ».

#### **Le détecteur :**

A la sortie de la colonne, l'analyte rencontre un détecteur, qui est aujourd'hui généralement connecté à un enregistreur de signal numérique pour le traitement. L'élément mesure en continu une grandeur proportionnelle à la quantité de divers analytes. Il existe de nombreux modèles, dont les principaux :

- ❖ **Détecteur à conductibilité thermique (TCD) :** Ce détecteur universel, mis au point dès les débuts de la CPG, est longtemps resté incontournable. Sa miniaturisation permet de l'utiliser aussi bien pour les colonnes remplies que pour les colonnes capillaires. De sensibilité moyenne, si on le compare aux autres détecteurs. Son principe repose sur la mesure des variations de conductibilité thermique des mélanges gazeux en fonction de leur composition. Il s'agit d'un catharomètre comportant deux thermistors identiques,



placés dans deux minuscules cavités d'un bloc métallique thermostaté à une température supérieure à celle de la colonne (fig.12). L'un d'eux est baigné par le gaz vecteur prélevé en amont de l'injecteur et l'autre par le gaz vecteur en aval de la colonne [44].

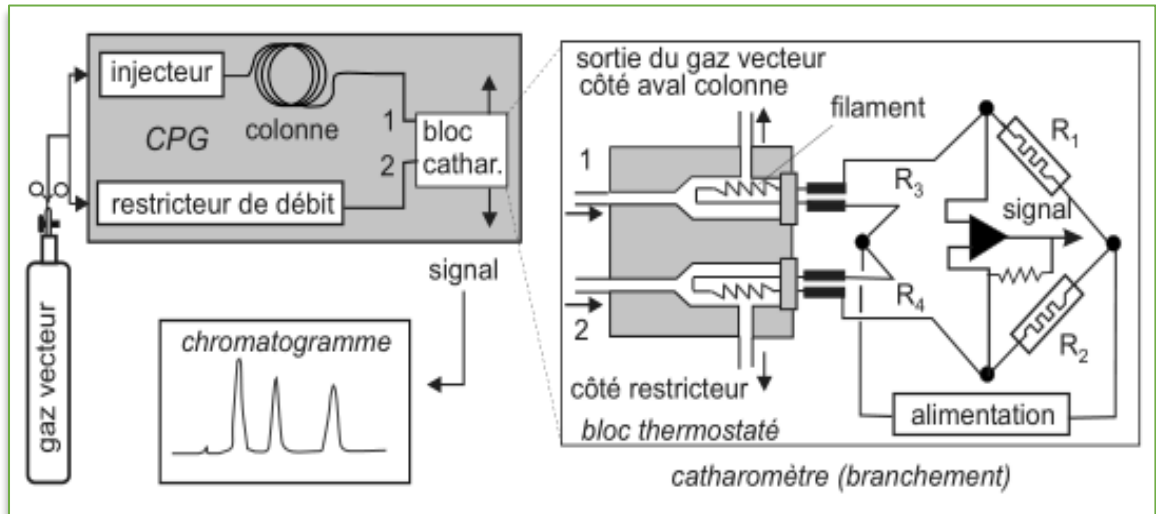


Figure 21 : Détecteur à conductibilité thermique.[44].

- ❖ **Un détecteur à ionisation de flamme (FID)** : qui est le plus utilisé, un FID utilise une flamme hydrogène / air dans laquelle l'échantillon est passé pour oxyder les molécules organiques et produire des ions. Les ions sont collectés et produisent un signal électrique qui est ensuite mesuré.

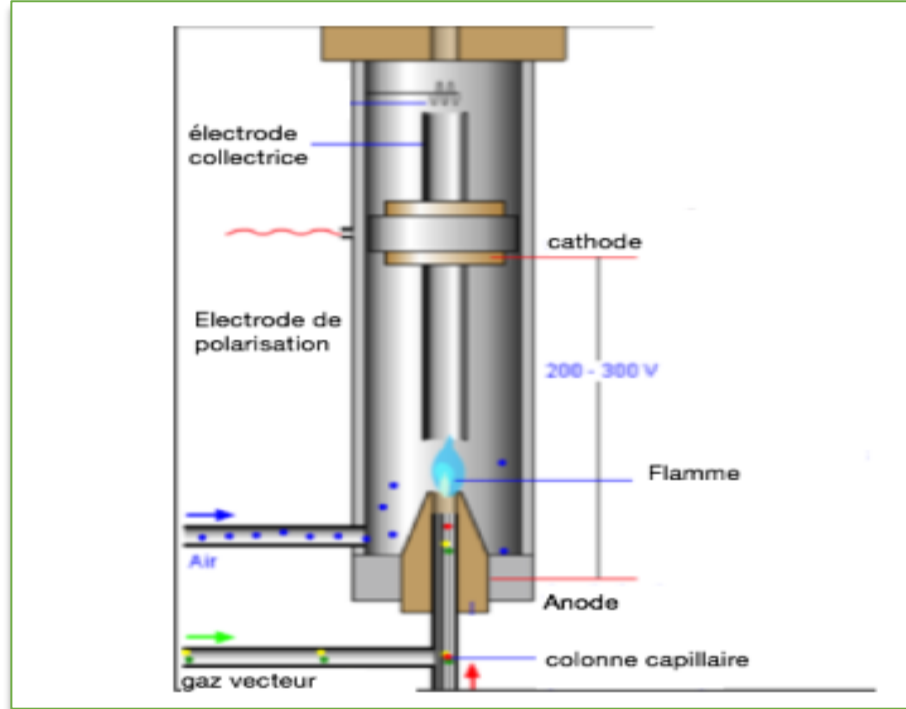


Figure 22 : Schéma du détecteur à ionisation de flamme (FID) [10]

❖ **Détection par spectrométrie de masse** : c'est le détecteur d'avenir, généralement utilisé en mode EI (electron ionisation) ou CI (chemical ionisation), qui provoque l'ionisation des molécules organiques éluées et analyse ces ions. Ce couplage GC–MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry) permet, au-delà de la simple détection de présence d'espèces chimiques, d'avoir des informations concernant lesdits composants. Typiquement utilisé avec les gaz vecteurs azote, hélium et hydrogène [50].

❖ **Intérêt et application :**

- Technique très répandue avec large domaine d'applications .
- Elle permet la séparation d'un mélange de molécules volatiles
- Applicable à une large gamme de composés d'intérêt pour l'analyse toxicologique et chimique.
- Extrême sensibilité, polyvalence, et une rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation.



#### IV.1. 4 Evolution des techniques analytiques chromatographique au cours des éditions de la Ph.Eur :

##### ❖ Passage CCM à HPLC ou CPG:

Une révision très fréquente a porté sur une baisse d'utilisation de la CCM dans les essais de Substances apparentées au profit de la CPG ou la HPLC. L'ajout de cette nouvelle méthode a entraîné une baisse du seuil d'impureté et l'ajout de toutes les impuretés spécifiées connues à l'heure actuelle ainsi que leurs limites correspondantes.

On a comme un exemple, le chlorhydrate de méthadone qui a vu son essai de substances apparentées initialement fait par CCM remplacé par de la CPG. Cette mise à jour a permis non seulement de modifier la méthode d'analyse des substances apparentées, mais également d'introduire toutes les impuretés spécifiées de la méthadone connues à ce jour. Une limite d'impuretés totales a également été introduite à cette occasion. Dans le même esprit, le paracétamol a subi une révision la sortie de l'*addendum* 4.4 de la Pharmacopée Européenne. Durant celle-ci, non seulement la CCM des substances apparentées a été remplacée par une HPLC, mais de plus, l'essai spécifique de recherche du 4- aminophénol, précédemment réalisé grâce à une seconde CCM, a été intégré à cette même méthode de HPLC [37].

##### ❖ Conservation ou ajout d'une CCM :

Malgré la tendance générale à remplacer CCM par HPLC ou CPG, celle-ci n'est pas abandonnée pour autant. Notamment, quand d'autres méthodes alternatives ne peuvent être utilisées ou mises en place facilement, ou simplement quand aucune autre méthode n'existe. La mise à jour de la monographie du midazolam lors de l'édition 6.0 de la Pharmacopée Européenne présente de nombreuses impuretés spécifiées supplémentaires. Aussi, l'essai des substances apparentées, mettant en œuvre une HPLC, permet la détection de toutes ces nouvelles impuretés. Cependant, cette nouvelle méthode ne permet pas de détecter l'impureté C. Le Conseil de l'Europe a donc maintenu la technique CCM pour la recherche de cette impureté.

Cet exemple démontre que la méthode CCM reste efficace et nécessaire selon les applications recherchées, même si les préférences actuelles du Conseil de l'Europe sont de remplacer la CCM par la CPG ou la HPLC [37].





### ❖ Modification des limites d'impuretés :

Certaines modifications appliquées lors des évolutions de la Pharmacopée Européenne n'influent pas sur les analyses elles-mêmes, mais plutôt sur le rendu des résultats. C'est le cas de la modification des limites autorisées.

Cet ajustement est le plus souvent une baisse des limites autorisées, afin de diminuer les éventuels risques liés aux produits de dégradation. Le fait de la toxicité potentielle du chloroacétanilide, la monographie du paracétamol définit une limite de cette impureté cinq fois inférieure à celle prescrite précédemment (0,005 pour cent à 10 ppm).

L'ajout d'impuretés spécifiées dans les monographies spécifiques a entraîné l'adjonction extrêmement fréquente d'une rubrique « somme des impuretés », afin de limiter la quantité totale d'impuretés. L'utilisation de méthodes quantitatives telles que la HPLC et la CPG permettent l'application en routine de ces nouvelles normes beaucoup plus facilement qu'avec des méthodes réalisées par CCM [37].

## IV.2 Méthodes spectroscopiques :

Les méthodes spectroscopiques sont des méthodes basées sur l'interaction entre **la matière** et **la lumière**.

La lumière est une onde électromagnétique constituée de corpuscules, les photons. Chaque photon porte un quantum d'énergie. L'énergie transportée par le photon est inversement proportionnelle à la longueur d'onde à laquelle il est associé [51].

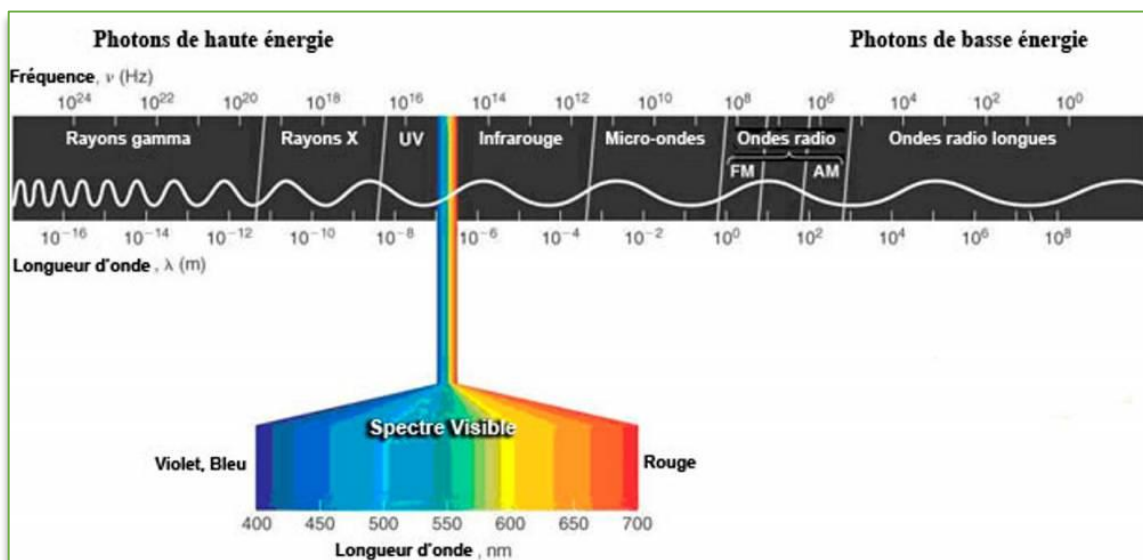


Figure 23 : Le spectre électromagnétique.

**Loi de Beer-Lambert :**

Lorsqu'un faisceau de lumière (photons) traverse un milieu absorbant son intensité décroît d'une manière exponentielle en fonction de l'augmentation de la concentration de la solution absorbante et de la longueur du trajet optique.

$$I = I_0 e^{-kcl}$$

- La transmittance  $T = I / I_0$ . (Exprimée en %, elle mesure la transmission de la solution).
- **L'absorbance (A)** elle mesure l'absorption de la solution.

$$A = \log (1/T) = \log I_0/I = \epsilon C l$$

$\epsilon$  : le coefficient d'absorption molaire, exprimé en  $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

$C$  : la concentration de la solution en  $\text{mol/L}$

$l$  : épaisseur de la cuve (cm)

**Remarque :** Cette loi est valable à condition d'avoir :

- Une lumière monochromatique, (en général, on se place à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de la substance à doser).
- Des solutions à doser très diluées ( $c < 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

**IV.2.1. Spectrométrie d'Absorption Atomique :**

**Figure 24 : Spectromètre d'absorption atomique**



### ❖ Définition :

La spectrométrie d'absorption atomique étudie les absorptions de lumière par l'atome libre. C'est une des principales techniques mettant en jeu la spectroscopie atomique dans le domaine UV-visible utilisée en analyse chimique. Elle permet de doser une soixantaine d'éléments chimiques (métaux et non-métaux). La spectrométrie d'absorption atomique en flamme permet le dosage mono-élémentaire des cations majeurs de l'ordre du mg/L dans des échantillons liquides [52].

Chaque élément a un nombre spécifique d'électrons associés à son noyau. La configuration orbitale normale et la plus stable des électrons est appelée état de base. Lorsque qu'une énergie est fournie à un atome, ce dernier l'absorbe et adopte une configuration électronique appelée état d'excitation. Cet état est instable et l'atome retourne immédiatement à son état de base libérant ainsi une énergie lumineuse.

### ❖ Principe et appareillage :

Un rayonnement électromagnétique monochromatique est envoyé sur la population d'atomes à doser mis à l'état de vapeur. Ces atomes vont absorber une partie du rayonnement. La mesure de  $I_0$  et  $I_t$  permet de connaître la concentration de l'élément à doser [53]:

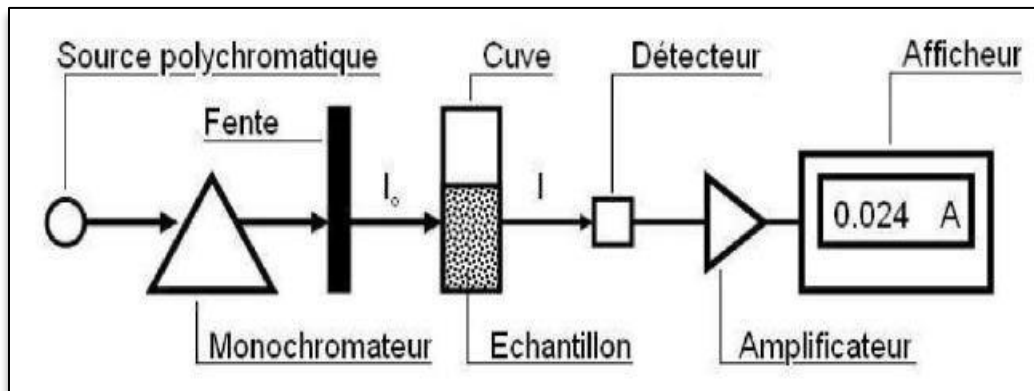


Figure 25 : Schéma de principe du spectrophotomètre

Tout instrument d'absorption atomique contient les mêmes éléments de base, à savoir :

- Une source de lumière (source primaire) qui produit une radiation caractéristique de l'élément à doser à la longueur d'onde  $\lambda$
- Un système pour moduler le rayonnement provenant de la source
- D'un diviseur de faisceau lumineux dans les appareils à double faisceau
- Un atomiseur dont le rôle est de produire un nuage d'atomes à l'état fondamental



- Un monochromateur sert à éliminer toutes les radiations autres que celle à la longueur d'onde  $\lambda$  choisie
- Un détecteur couplé à un système électronique pour enregistrer et traiter les signaux.

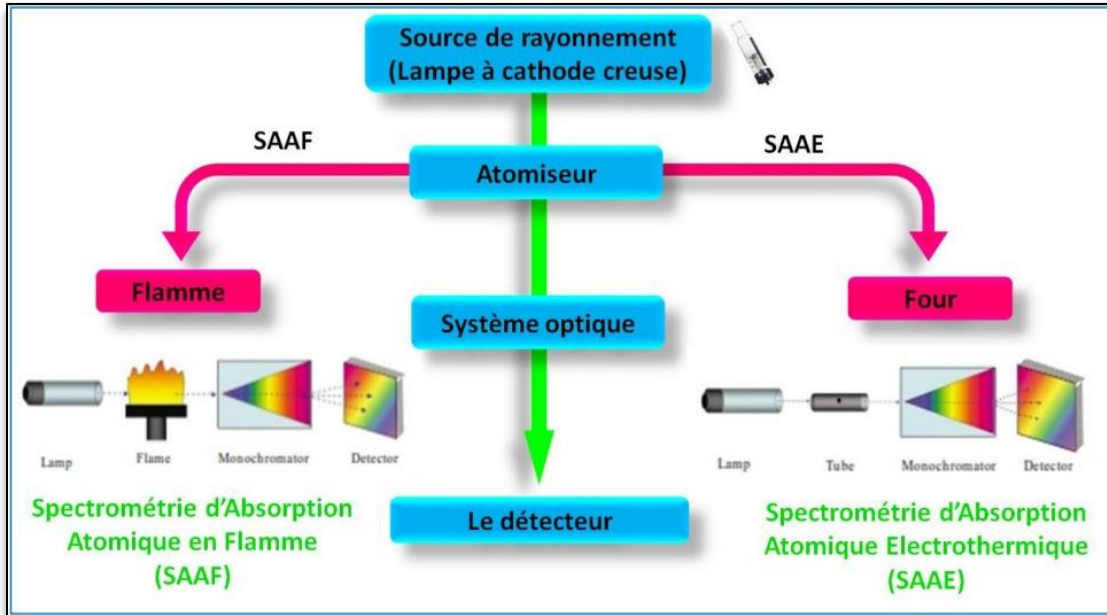


Figure 26 : L'appareillage en spectrométrie d'absorption atomique

Lors du procédé d'absorption atomique, l'énergie fournie à l'atome provient d'une source lumineuse appelée :

- ✓ **La lampe à cathode creuse.** Elle est constituée :
  - D'un tube en verre d'une vingtaine de centimètres de long et de 3 à 5 cm de diamètre, fermé à l'extrémité par une fenêtre de quartz transparente aux UV ;
  - D'une anode en tungstène (W) généralement;
  - D'une cathode cylindrique en forme de petit godet d'environ 1 cm de profondeur et de 3 à 5 mm de diamètre. Le fond de la cathode, qui est la partie essentielle de la lampe, est usinée en l'élément que l'on veut doser, ou recouvert de l'élément ou d'un alliage de celui-ci.

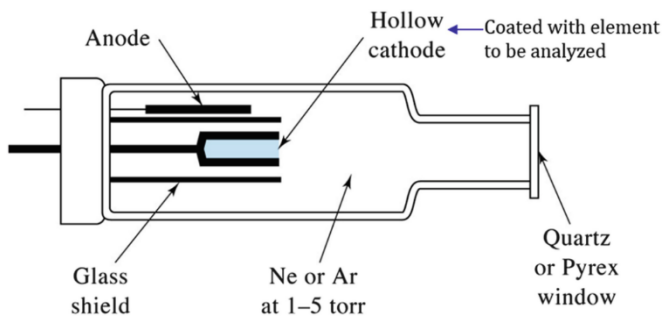


Figure 27 : Schéma et photo d'une lampe à cathode creuse

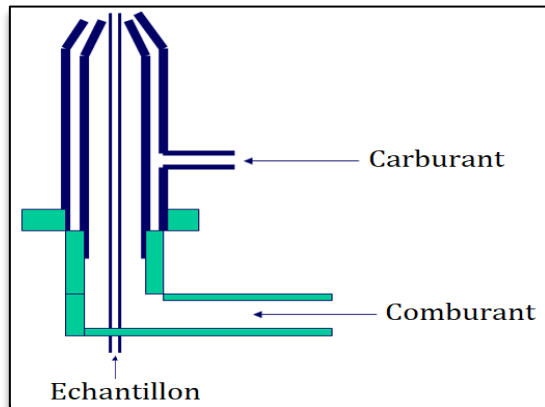


### ✓ Les systèmes d'atomisation :

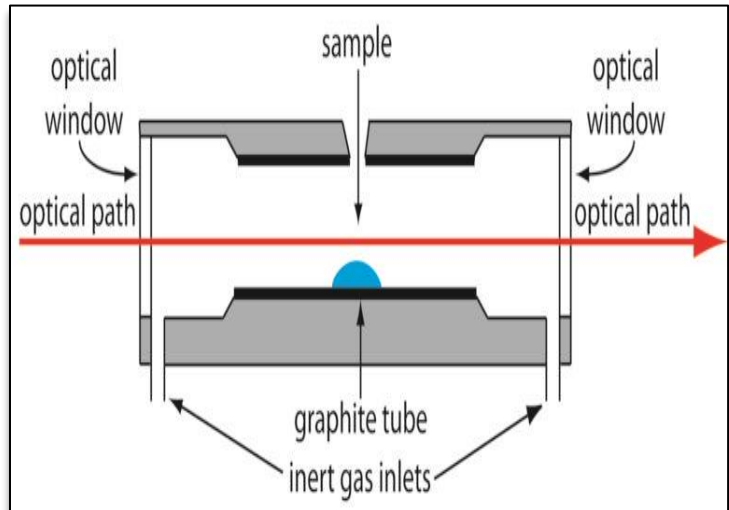
Le rôle de l'atomiseur est de produire des atomes, mais ceux-ci doivent se trouver à l'état fondamental pour pouvoir absorber les photons provenant de la source.

On distingue essentiellement deux types d'atomiseurs :

La flamme (SAA en flamme) et le four en graphite (SAA électrothermique).



**Figure 28 : Schéma simplifié d'un brûleur**



**Figure 29 : Schéma d'un four**

### ✓ Monochromateur :

Le rôle du monochromateur consiste à éliminer toute la lumière, quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille (généralement la raie de résonance de l'élément à étudier).

Le monochromateur est constitué de trois éléments essentiels :

- Une fente d'entrée chargée de définir un pinceau de lumière polychromatique
- Un système dispersif de la lumière (prisme ou surtout un réseau de diffraction)
- Une fente de sortie chargée de sélectionner la longueur d'onde et de définir la bande passante.

### ✓ Détecteur :

Le détecteur est situé à la sortie du monochromateur. Son rôle est de mesurer les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances. Pratiquement tous les appareils à l'heure actuelle sont équipés d'un tube photomultiplicateur. Ce système de détection convient parfaitement pour tous les spectromètres permettant l'analyse mono élémentaire.

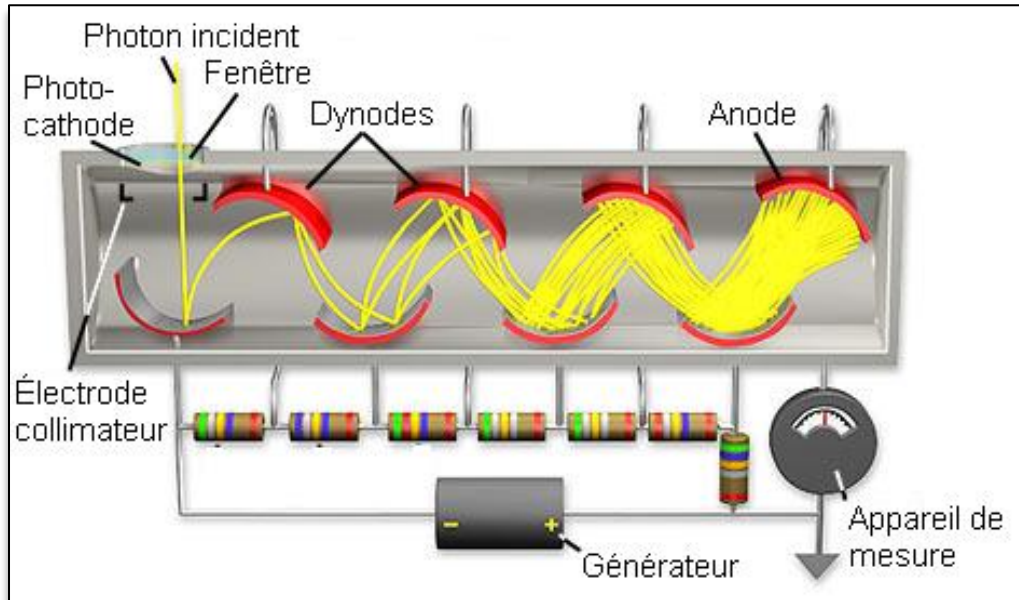


Figure 30 : Schéma simplifié d'un photomultiplicateur

❖ **Intérêt et application :**

La SAA couvre un vaste éventail d'applications : l'analyse des eaux, des tissus végétaux et animaux, des aliments et boissons, des sols, engrais et sédiments, des liquides biologiques, médicaments, des produits industriels (ciments, verres, métaux, produits pétroliers...) [53].

✓ **Biologique :**

Dans le domaine de l'analyse médicale, le contrôle des métaux dans les liquides biologiques est très important. Les deux types d'échantillons les plus analysés sont le sang et l'urine.

- Dosage du:  $\text{Ca}^{2+}$  ,  $\text{Mg}^{2+}$
- Dosage des oligo-éléments:  $\text{Zn}^{2+}$  ,  $\text{Cu}^{2+}$  ,  $\text{Ce}^{2+}$ .

✓ **Toxicologique :**

- Dosage des métaux lourds : Al, Cr, Cd, Hg dans diverses matrices.
- Dosage du Pb dans le sang (suspicion de saturnisme).

✓ **Pharmaceutique :**

La SAA est inscrite à la pharmacopée européenne comme technique d'analyse, elle est recommandée par exemple dans la détermination de la teneur :

- De l'Aluminium dans les solutions de dialyse péritonéale. Il faut vérifier la teneur en aluminium (risque d'encéphalopathie).
- Du Zinc dans les préparations injectables d'insuline.
- Du Cadmium, Plomb et Nickel dans le stéarate de Magnésium.

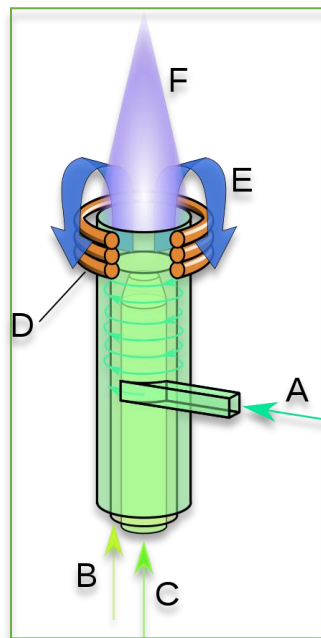


✓ **Environnement :**

- Dosage des métaux toxiques dans l'eau, plantes et poissons ...
- Dosage des métaux toxiques dans le sol, roches, sédiments ...

### IV.3 Méthodes analytiques instrumentales basées sur l'ICP :

L'ICP abréviation de (Inductively Coupled Plasma), est une technique analytique à plasma à couplage inductif permettant de mesurer la teneur d'un élément inorganique présent dans un échantillon. Cette technique est la méthode la plus utilisée en chimie analytique applicable à tout type d'éléments chimiques élémentaires.



**Figure 31 : schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma à couplage inductif**

- A :** flux de gaz de refroidissement tangentiel au tube de quartz extérieur  
**B :** flux de gaz de refoulement (généralement Ar)  
**C :** flux de gaz porteur avec échantillon  
**D :** bobine d'induction qui forme le champ magnétique intense à l'intérieur de la torche  
**E :** vecteurs de force du champ magnétique  
**F :** la torche à plasma (la décharge).



L'ICP peut être couplé avec la spectrométrie de masse de même qu'avec la spectrométrie de fluorescence atomique. La spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (**ICP-MS**) couple l'ICP pour générer des ions avec un spectromètre de masse pour détecter les ions générés par le plasma. Tandis que la spectrométrie de fluorescence atomique à plasma à couplage inductif (**ICP-AES**) couple l'ICP pour générer des ions excités ou des atomes qui émettent un rayonnement électromagnétique à des longueurs d'onde caractéristiques de certaines impuretés élémentaires avec un spectromètre d'émission atomique pour évaluer la concentration des éléments pouvant être déterminée par l'intensité d'émission [54].

### IV.3. 1 La spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) :

La spectrométrie de masse est une technique instrumentale d'analyse reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse. Elle est basée sur le couplage d'une torche à plasma générant des ions et d'un spectromètre de masse quadripolaire (dans le cas de l'ICP—MS Thermoelectron X7) qui sépare ces ions en masse.

L'analyse des échantillons par ICP-MS peut être divisée en quatre étapes : introduction, nébulisation, ionisation, séparation en masse, détection.

L'échantillon est mis en solution. Un passeur automatique d'échantillons couplé à une pompe péristaltique introduit la solution dans une chambre de vaporisation où le nébuliseur la transforme en un aérosol liquide composé de microgouttelettes de quelques  $\mu\text{m}$  à l'aide d'argon gazeux. L'aérosol ainsi formé est envoyé dans une torche à plasma d'argon à très haute température suffisante pour vaporiser, dissocier, atomiser et ioniser complètement la plupart des éléments.

Une partie de ce plasma (10%) est échantillonnée par un premier orifice de 1 mm de diamètre environ au sommet d'un cône en nickel ou en platine (« le sampler »), puis se détend sous l'effet du vide modéré (1-2 mbar) qui règne dans une chambre de pompage différentiel (qui permet de passer de la pression atmosphérique au vide secondaire du spectromètre de masse) et passe ensuite dans un deuxième orifice « le skimmer ». Un système de vide différentiel accélère les ions du plasma vers un ensemble de lentilles électrostatiques qui extrait les ions chargés positivement et les transporte vers un filtre de masse quadripolaire. Cet ensemble de lentilles est aussi appelé lentille ionique. Ce filtre de masse transmet seulement les ions présentant un rapport masse sur charge particulier, déterminé en fonction de la fréquence appliquée au quadripôle. Le principe du spectromètre est basé sur la séparation des éléments en fonction de leur charge et de leur masse.





Les quatre barres cylindriques qui composent le spectromètre sont séparées en deux paires opposées et soumises à un courant continu et alternatif. Les deux paires ont des tensions continues opposées et des tensions alternatives de même amplitude et de signe opposé. Dans le plan formé par la paire positive les ions légers sont trop déviés et heurtent les barres. L'ion à analyser et ceux ayant une masse supérieure restent entre les deux barres. Dans ce plan le quadripôle joue le rôle de filtre passe-haut. Dans le plan de la paire négative, ce sont les ions lourds qui sont déviés, ce qui équivaut à un filtre passe-bas. En combinant ces deux filtres, seuls les ions ayant le rapport  $m/z$  (masse/charge) désiré seront transmis au détecteur [55].

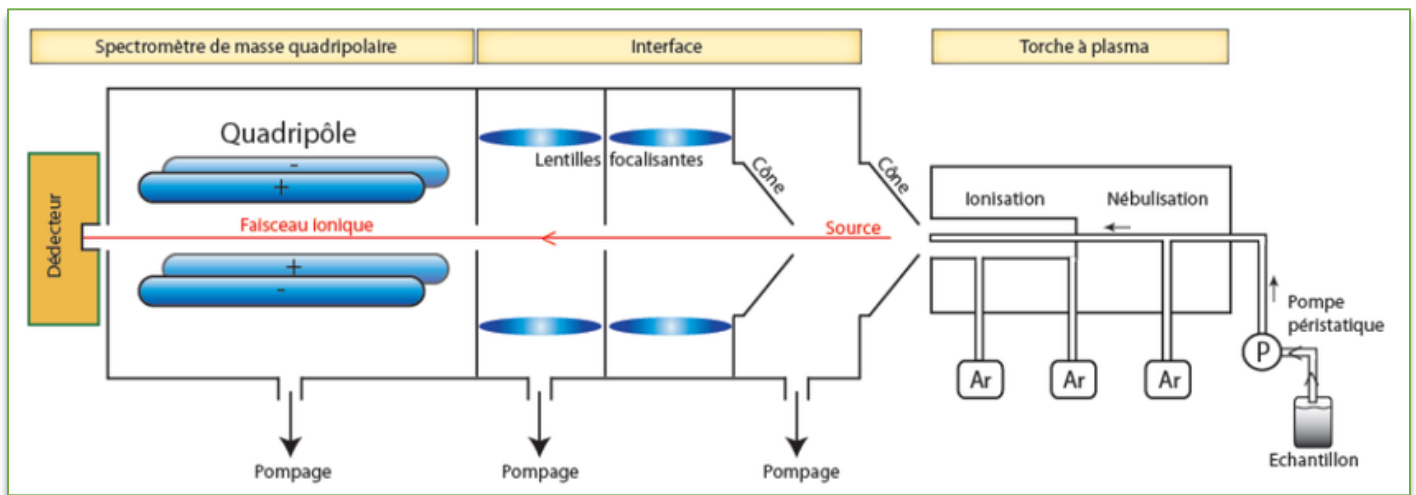


Figure 32 : Schéma du principe de fonctionnement de l'ICP-MS quadripolaire

❖ **Avantages :**

- Très haute sensibilité (allant jusqu'au pg/L).
- Très large gamme d'applications (presque tous les éléments, les exceptions étant les non-métaux stricts et les gaz rares).
- Elle nécessite une petite quantité d'échantillon.
- Analyse semi-quantitative rapide avec une valeur informative élevée
- Gamme exceptionnelle dynamique linéaire ( $10^8$  voire  $10^9$ ) en mesures d'intensités ou en comptage d'ions.

- ❖ **Les inconvénients** majeurs à l'utilisation de l'ICP-MS sont actuellement d'ordre financier, même pour les systèmes à faible résolution. L'appareillage est un investissement coûteux à l'achat et son utilisation est onéreuse, car il est gros consommateur d'argon ultra-pur et d'électricité.



### IV.3.2 La spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) : [56, 57]

Les spectromètres d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) sont l'un des instruments les plus populaires dans les laboratoires environnementaux car une seule méthode/un seul analyseur est capable d'analyser presque tous les métaux dans un grand nombre d'échantillons par jour.

Les spectromètres ICP offrent un débit très élevé et permettent d'obtenir plusieurs résultats par cycle. L'ICP-AES convient à presque tous les éléments, à l'exception des halogènes et des gaz inertes, et est particulièrement utile pour les éléments réfractaires, tels que le silicium, l'aluminium, le baryum, etc. qui donnent de mauvais résultats par la méthode AA à la flamme. Les échantillons sont généralement aqueux et aspirés dans un nébuliseur. Le développement d'une méthode est relativement facile ; vous pouvez vous en sortir avec des réactifs de qualité analytique. Une fois la méthode mise au point, la plupart des employés de laboratoire peuvent facilement analyser les échantillons. Le principal inconvénient est le manque de sensibilité pour certains éléments et les interférences physiques et spectrales.

Pour une analyse pratique avec l'ICP-AES, l'appareillage (figure) doit comporter les composants essentiels suivants:

- Une source d'énergie pour atomiser l'échantillon à tester et exciter les atomes
- Un système d'échantillonnage pour introduire l'échantillon dans le plasma
- Un système Optique haute résolution pour observer les émissions du plasma et pour séparer et isoler les longueurs d'onde émises spécifiques pour les éléments à mesurer
- Un système de détection pour mesurer l'intensité des émissions lumineuses
- Un ordinateur avec logiciel de calcul et d'affichage des spectres d'émission et des valeurs de concentration

#### ❖ Principe :

Les échantillons solides sont généralement dissous ou digérés à l'aide d'une combinaison d'acides dans un système à micro-ondes fermé, ce qui permet de conserver les éléments potentiellement volatils. La solution échantillon résultante est ensuite nébulisée dans le cœur d'un plasma d'argon couplé par induction, où des températures d'environ 9000 K sont atteintes. À de telles températures élevées, la solution nébulisée est vaporisée et les espèces à analyser sont atomisées, ionisées et excitées thermiquement. Les espèces à analyser peuvent ensuite être détectées et quantifiées à l'aide d'un spectromètre à émission atomique, qui mesure l'intensité du rayonnement émis à la longueur d'onde caractéristique de l'élément, à partir d'atomes ou d'ions

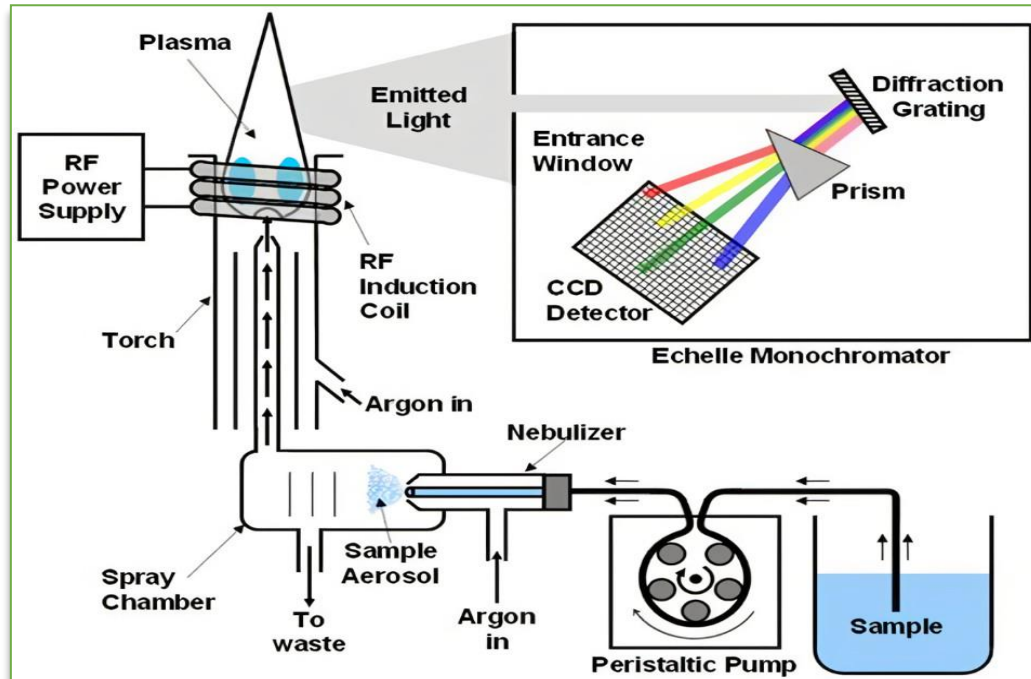


Figure 33 : Schéma de l'appareillage d'un ICP-AES

excités thermiquement. Les mesures d'intensité sont converties en concentration élémentaire par comparaison avec des étalons d'étalonnage



Tableau 18 : Tableau comparatif entre l'ICP-MS, l'ICP-AES, la F-AAS et la GF-AAS

		ICP-MS	ICP-AES	F-AAS	GF-AAS
<b>Limite de détection</b>		Excellent pour la plupart des éléments	Très bon pour la plupart des éléments	Très bon pour certains éléments	Excellent pour certains éléments
<b>Temps d'analyse échantillon</b>		Tous les éléments <1min	60 éléments/Min	15 sec/élément	4 min/element
<b>Plage dynamique</b>		108	106	103	102
<b>Précision</b>		0.5-2%	0.1-2%	0.1-1%	0.5-5%
<b>Interférences</b>	Spectrales	Peu	Beaucoup	Très peu	Très peu
	Chimiques	Certain	Très peu	Beaucoup	Très peu
	Physiques	Certain	Très peu	Certain	Très peu
<b>Développement de la méthode</b>		Difficile	Modéré	Facile	Modéré
<b>Coût de l'instrumentation</b>		Très élevé (\$130,000 – \$180,000)	Elevé (\$50,000 – \$100,000)	Faible (\$15,000 – \$40,000)	Moyen (\$30,000 – \$65,000)

A large, horizontal scroll graphic with a green outline and grey rollers at the top and bottom. The text "PARTIE PRATIQUE" is centered on the scroll.

# PARTIE PRATIQUE



## I. Terrain de stage :

### Présentation de l'agence nationale des produits pharmaceutiques ANPP :

Située au niveau de la wilaya d'ALGER à Cheraga, l'agence a été créée par décret exécutif n°19-190 du 03 juillet 2019 complété et modifié par décret exécutif n° 20-391 du 19 décembre 2020. Qui définit les missions, l'organisation et le fonctionnement de l'Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques, à savoir l'enregistrement des produits pharmaceutiques et l'homologation des dispositifs médicaux, le contrôle physicochimique et microbiologiques des produits pharmaceutiques, audit des unités de contrôle physicochimique et microbiologique, procéder aux évaluations des bénéfices et des risques liés à l'utilisation des produits pharmaceutiques et risques des dispositifs médicaux, à usage de la médecine humaine. Ainsi, solliciter les autorités compétentes pour prendre les mesures nécessaires en vue de préserver la santé publique en cas de produit pharmaceutique ou de dispositif médical qui représente ou étant suspecté de représenter une menace pour la santé humaine.

Les axes de contrôles au sein de l'agence nationale des produits pharmaceutiques sont :

- Chimie
- Pharmacotechnie
- Microbiologie
- Technico-réglementaire
- Pharmaco-toxicologie

A cet effet, on a eu l'honneur d'avoir pratiqué au niveau d'une agence étatique pourvue d'une véritable expérience dans le contrôle et l'assurance qualité des médicaments, dont l'identification et la quantification des impuretés font une partie intégrante et importante dans la qualité de médicaments mais aussi leurs sécurités.



**Figure 34 : Siège de l'agence national des produits pharmaceutiques**



## II. Problématique :

Un produit pharmaceutique contient des impuretés. Par conséquent, il en résulte une mauvaise qualité pouvant nuire à la santé du patient. Pour cela, le contrôle des impuretés dans les produits pharmaceutiques constitue une préoccupation essentielle des analystes de l'industrie pharmaceutique ; ainsi, qu'une attention particulière des autorités de santé. Pour cela, compte tenu de la pauvreté sur le marché Algérien des standards impuretés, une étude comparative entre deux méthodes de dosages a été réalisée. Celle utilisant les standards impuretés avec celle basée sur les standards échantillons.

Il a été procédé également au dosage de l'éthanol comme solvant résiduel dans le produit X en cours de validation par méthode interne, afin de vérifier la limite de ladite impureté qui doit répondre aux normes édictées par l'ICH.

## III. Les produits étudiés :

### III.1 DESOGESTREL (Principe actif) :

- **DCI** : Desogestrel
- **Producteur** : Industriale chemica
- **Classe pharmaco-thérapeutique** : Contraceptifs hormonaux à usage systémique

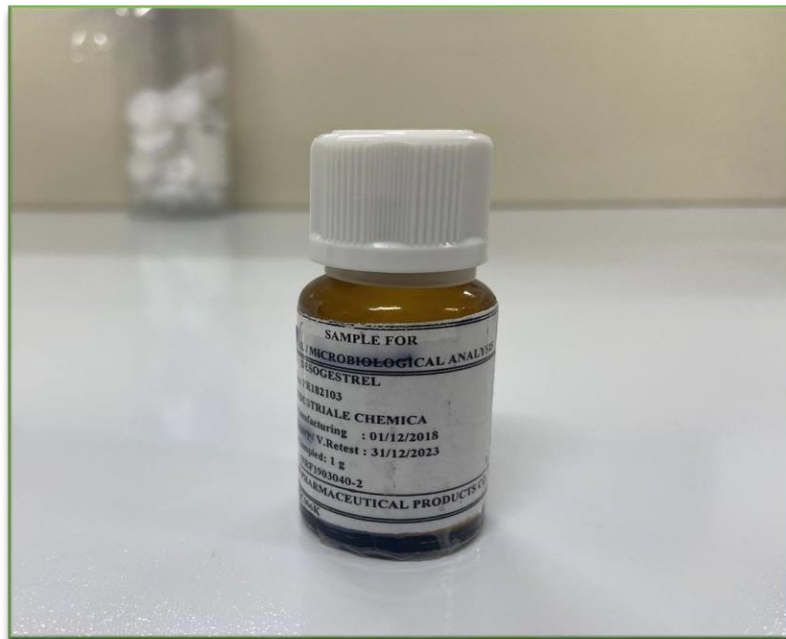


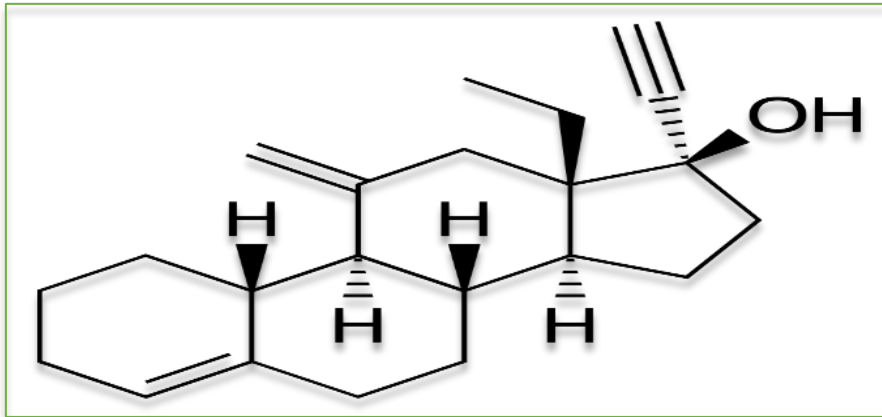
Figure 35 : Flacon contenant 1g de DESOGESTREL



- **Formule et structure chimique :**

Formule chimique selon l'IUPAC : 3-Deketo-11-methylene-17 $\alpha$ -ethynyl-18-Methyl-19-nortestosterone; 11-Methylene-17 $\alpha$ -ethynyl-18-methylestr-4-en-17 $\beta$ -ol

Masse molaire : 310,47 g/mol



**Figure 36: Structure chimique du desogestrel**

- **Définition du desogestrel :**

Le desogestrel est un progestatif. L'effet contraceptif du desogestrel est lié à une inhibition de l'ovulation. Les autres effets incluent une augmentation de la viscosité de la glaire cervicale.

Il convient mieux aux femmes qui allaitent et à celles qui ne peuvent pas ou ne veulent pas utiliser d'estrogènes.

Le desogestrel est un promédicament de l'étonogestrel (3-kétodesogestrel), et, via ce métabolite actif, il possède une activité progestative, des effets antigonadotropes, une très faible activité androgénique, une très faible activité glucocorticoïde, et aucune autre activité hormonale.

- **Impuretés du desogestrel :**

Les deux importantes impuretés sont le 3-keto-desogestrel et 3-hydroxy-desogestrel dont leurs limites sont fixées à pas plus de 0,1% nommées impureté C et impureté B respectivement selon la pharmacopée américaine USP.

### III.1 .1. Dosage de 3-keto-desogestrel et 3-hydroxy-desogestrel dans le Desogestrel(PA) :





➤ **Matériel et méthode :**

Les différentes méthodes figurées dans la monographie de la Pharmacopée Européenne et celle de l'USP de notre cas d'étude utilisent même matériels et conditions de travail, mais les principes de calcul et de dosage de ces impuretés qui diffèrent.

L'HPLC dans ce cas prend la grande partie car elle sert à l'identification de ce type d'impuretés organiques présent dans le Desogestrel(PA).

**1) Matériel :**

• **DESOGESTREL (PA):**

**Principe actif :** Désogestrel

**Quantité :** 1g

**Formes et préparations:** Poudre.

**Classe pharmaco-thérapeutique :** Contraceptifs hormonaux à usage systémique.



**Figure 37 : Désogestrel (PA) à examiner**



- **Réactifs :**
  - ✓ Eau R
  - ✓ Acetonitrile R1
  
- **Matériel et Verrerie :**
  - Agitateurs magnétique
  - Balance de précision analytique
  - Bain Ultrason;
  - Dispositif de filtration sous vide
  - Matériels de laboratoire ( fioles, ballons, pipettes, ....)
  - HPLC Waters e2695 (Figure 08)
  
- **Appareillage et condition opératoires :**
  - Chromatographe en phase liquide à haute performance Waters, équipé d'un détecteur PDA.



Figure 38 : HPLC utilisée dans le dosage de 3-kétdésogestrel et 3-hydroxydésogestrel



- Colonne Zorbax SB-C18 (250mm, 5 $\mu$ m, 4,6 mm)
- Phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 $\mu$ m) à protection stérique.
- Température : 50 °C.

**Phase mobile** : eau R, acétonitrile R1 (27:73 V/V).

**Débit** ; 1,0 mL/min

**Détection** : spectrophotomètre à 205 nm.

**Volume d'injection** : 15 $\mu$ l

**Temps d'analyse** : 2,5 fois le temps de rétention du désogestrel.

- **Conformité du système :**

Le teste n'est valide que si dans le chromatogramme obtenu avec la solution standard, l'**écart type relatif (RSD)** pour chacun des pics correspondants est inférieur à 5%.

## 2) Méthode :

- **Préparation de la phase mobile :**

Dans une fiole de 1L on mélange 730 ml d'acétonitrile R1 avec 270 ml d'eau R filtré.

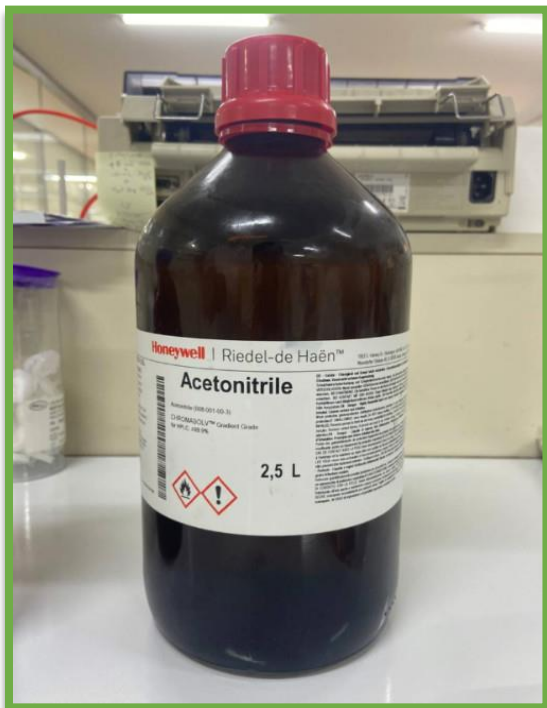


Figure 39: préparation de la phase mobile

- **Préparation du solvant :**

-Dans une fiole de 1l, on mélange 500 ml d'acétonitrile R1 avec 500 ml d'eau R, bien filtré. On obtient un solvant S à ratio 50R1/50R.

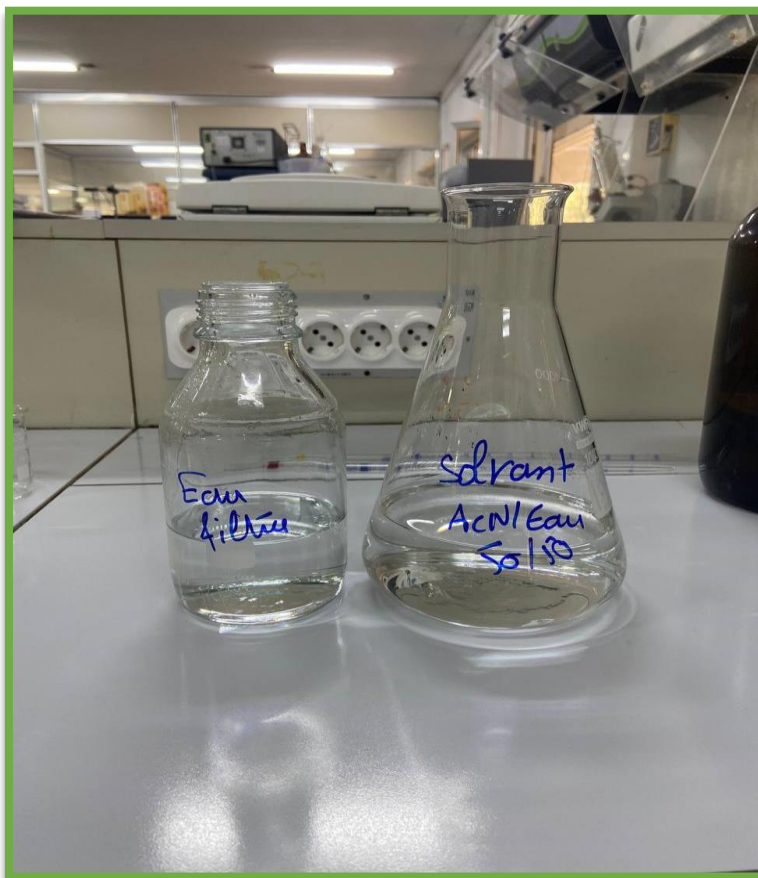


Figure 40: Solvant S 50R1/50R

- **Préparation des solutions :**

- 1) **Préparations des solutions pour la méthode USP :**

- ❖ **Solution (1) :**

- On pèse 20 mg de désogestrel à examiner dans une balance de précision analytique.
- Dans une fiole de 50 ml, on dissout le 20 mg de désogestrel dans 25 ml d'acétonitrile R1 en utilisant le bain ultrason.
- On complète à 50 ml avec l'eau R, bien agité la solution.
- La solution ainsi obtenue à une concentration de 0,04%(m /v) en désogestrel.

- ❖ **Solution (2) :**



- On pèse 4 mg pour chacun des standards désogestrel, RS de 3-keto-desogestrel RS et 3-hydroxy-desogestrel RS.
- Dans une fiole de 10 ml, on mélange les trois standards avec 5 ml d'acétonitril R1, bien agité avec le bain ultrason.
- Compléter à 10 ml avec l'eau R, bien agité avec un bain ultrason.



**Figure 41 : pesée des standards de la solution (2)**

- La solution ainsi obtenue à une concentration de 0,04%(m /v) en 3-keto-desogestrel RS et en 3-hydroxy-desogestrel RS et désogestrel RS.

## 2) Préparations des solutions pour la méthode pharmacopée européenne :

### ❖ Solution A :

Compte tenu de la similarité des deux concentrations pour la méthode USP et la méthode pharmacopée européenne, la solution A a été préparée de la même façon que la solution 1 (Donc de même concentration).

### ❖ Solution B :

- On prélève 1,0 ml de la solution à examiner (solution A) avec une pipette graduée de 1 ml.
- On complète à 100 ml avec le solvant S. (**dilution de la solution A**)
- La solution obtenue à une concentration de 0,0004%(m /v) en désogestrel .

### ❖ Solution C :



- On prélève 1 ml de la solution B avec une pipette graduée de 1 ml.
- On complète à 10 ml avec le solvant S. (**dilution de la solution B**)
- La solution obtenue à une concentration de 0,00004%(m /v) en désogrestrel.



**Figure 42 : Les différentes solutions de dosage de 3-kétdésogestrel et 3-hydroxydésogestrel**

⇒ Après la préparation des solutions on passe au remplissage des cuvettes d'HPLC.

➤ **Résultats et interprétation :**

✓ □ L'essai n'est valable que si, dans le chromatogramme obtenu avec la solution standard (Solution 2), l'écart type relatif (**RSD**) pour chacun des pics correspondants est inférieur à 5%.

Le calcul de l'RSD a été effectué automatiquement par le logiciel de notre équipements (Empower 3), le résultat mentionnée ci-dessous. (Figure 07)

$$s_r(\%) = \frac{100}{\bar{y}} \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n - 1}}$$



$y_i$  = valeurs individuelles (surfaces ou hauteurs de pic, ou rapports de surfaces pour la méthode de l'étalon interne),

$\bar{y}$  = moyenne des valeurs individuelles,

$n$  = nombre des valeurs individuelles.



### Component Summary

**Component Summary For Retention Time  
Channel: 2998 Ch1 205nm@1.2nm**

	Sample Name	Inj	Channel	Vl1	3-hydroxydesogestrel	3-ketodesogestrel
1	std sst	1	2998 Ch1 205nm@1.2nm	3	4,159	4,888
2	std sst	2	2998 Ch1 205nm@1.2nm	3	4,154	4,885
3	std sst	3	2998 Ch1 205nm@1.2nm	3	4,151	4,882
4	std sst	4	2998 Ch1 205nm@1.2nm	3	4,151	4,882
5	std sst	5	2998 Ch1 205nm@1.2nm	3	4,148	4,879
6	std sst	6	2998 Ch1 205nm@1.2nm	3	4,149	4,879
Mean					4,152	4,882
Std. Dev.					0,004	0,004
% RSD					0,1	0,1

**Component  
Summary For  
Retention Time  
Channel: 2998 Ch1  
205nm@1.2nm**

	desogestrel
1	24,927
2	24,928
3	24,908
4	24,882
5	24,862
6	24,843
Mean	24,892
Std. Dev.	0,035
% RSD	0,1

**Figure 43 : résultat de calcul de l'RSD par Empower3**

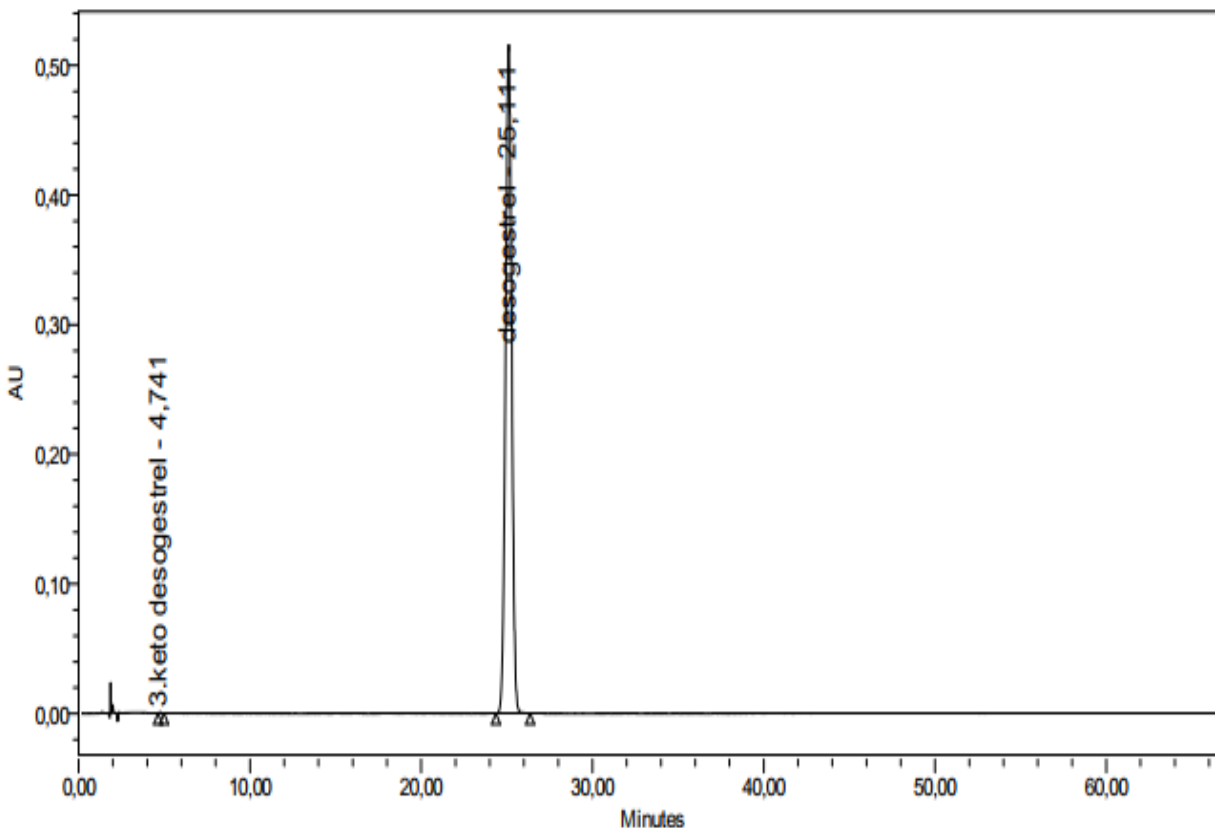
⇒ On a l'écart type relatif (**RSD**) pour chacun des pics de standards dans la solution 2 est égale à 0,1% (**donc inférieur à 5%**).

*On conclut que notre essai est valable pour interpréter les résultats obtenus*





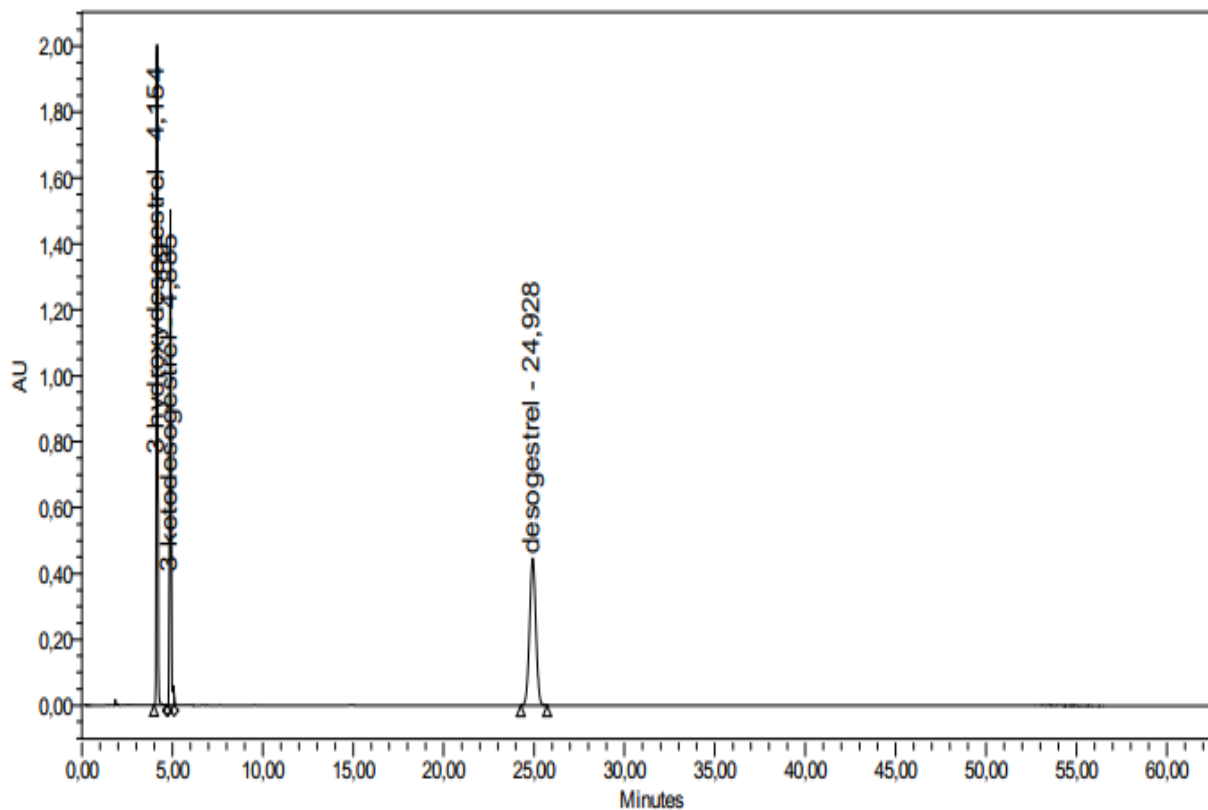
Les résultats obtenus selon méthode USP :



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	3-hydroxy desogestrel	4,150			
2	3-keto desogestrel	4,741	6498	0,05	754
3	desogestrel	25,111	12939699	99,95	515381

	EP Plate Count	Symmetry Factor	EP Plate Count	Resolution
1				
2	8,829479e+003	1,857486e+000	8,829479e+003	
3	2,294588e+004	1,009446e+000	2,294588e+004	4,722942e+001

Figure 44: chromatographe obtenu avec la solution (1)



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	3-hydroxydesogestrel	4,154	10421781	35,52	2002759
2	3-ketodesogestrel	4,885	8025423	27,35	1500146
3	desogestrel	24,928	10893107	37,13	445246

	EP Plate Count	Symmetry Factor	EP Plate Count	Resolution
1	1,463480e+004	1,129231e+000	1,463480e+004	
2	2,076257e+004	1,123574e+000	2,076257e+004	5,365853e+000
3	2,372149e+004	1,011778e+000	2,372149e+004	5,133324e+001

**Figure 45: chromatographe obtenu avec la solution (2)**



- ✓ L'air du pic de 3-hydroxy-désogestrel est inférieur à la limite d'exclusion estimée à 0,05% selon l'USP.  
A cet effet, on a obtenu juste l'air du pic de 3-kéto-désogestrel.

- ✓ **Calcul du pourcentage de 3-kéto-désogestrel :**

Afin d'obtenir le pourcentage de l'impureté, on calcule selon l'équation citée dans l'USP :

$$\% = (r_u / r_s) \times (c_s / c_u) \times 100$$

$r_u$  = L'air du pic de 3-kéto-désogestrel dans la solution 1

$r_s$  = L'air du pic de standard 3-kéto-désogestrel dans la solution 2

$c_s$  = La concentration du standard 3-kéto-désogestrel dans la solution 2

$c_u$  = La concentration du désogestrel dans la solution 1

**Nb** : les concentrations sont exprimées en  $\mu\text{g/ml}$

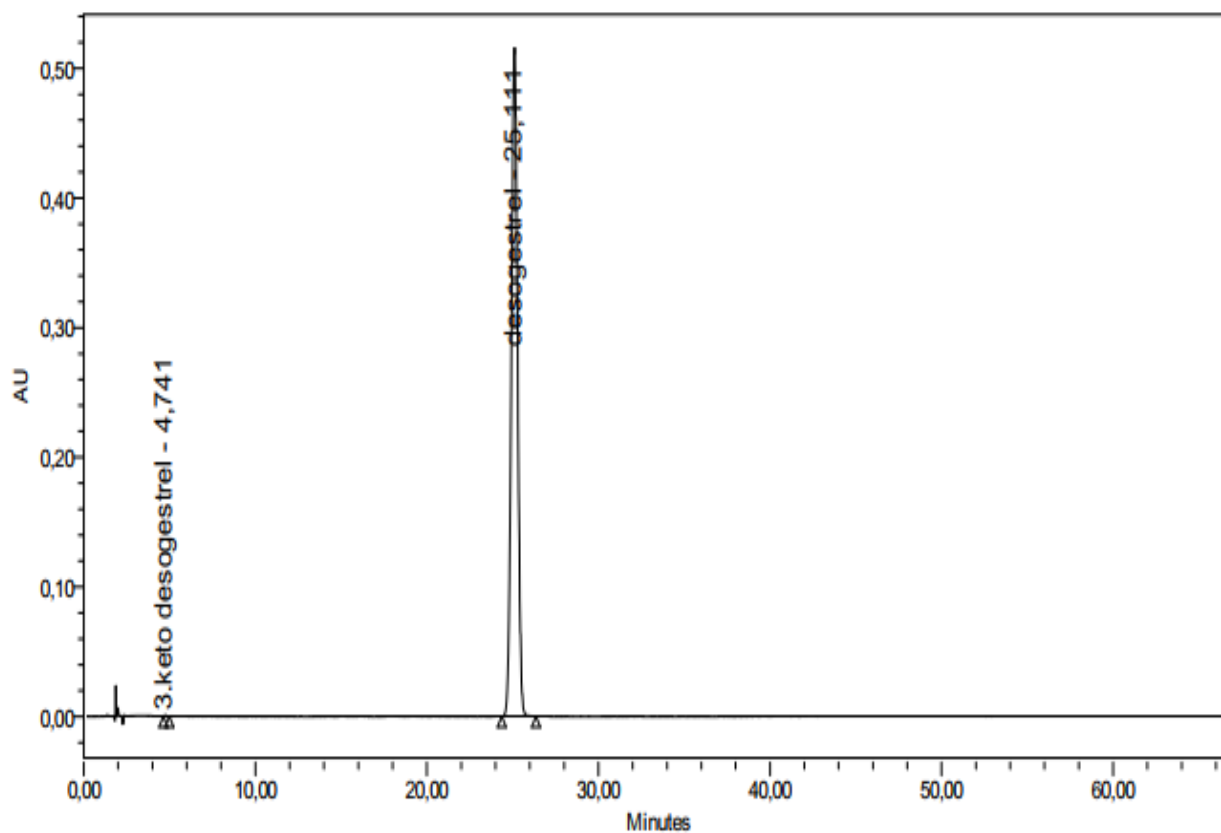
En remplaçant les données numériques obtenues avec le chromatographe dans l'équation on obtient :

$$(6498/8025423) \times (400 \times 10^{-3} / 400 \times 10^{-3}) \times 100 = \mathbf{0,08\%}$$

- ✓ Ainsi le pourcentage du 3-kéto-désogestrel dans notre échantillon est inférieur à la limite de la dite impureté à savoir **0,1%** selon USP.



## 3) Les résultats obtenus selon méthode Ph.E :

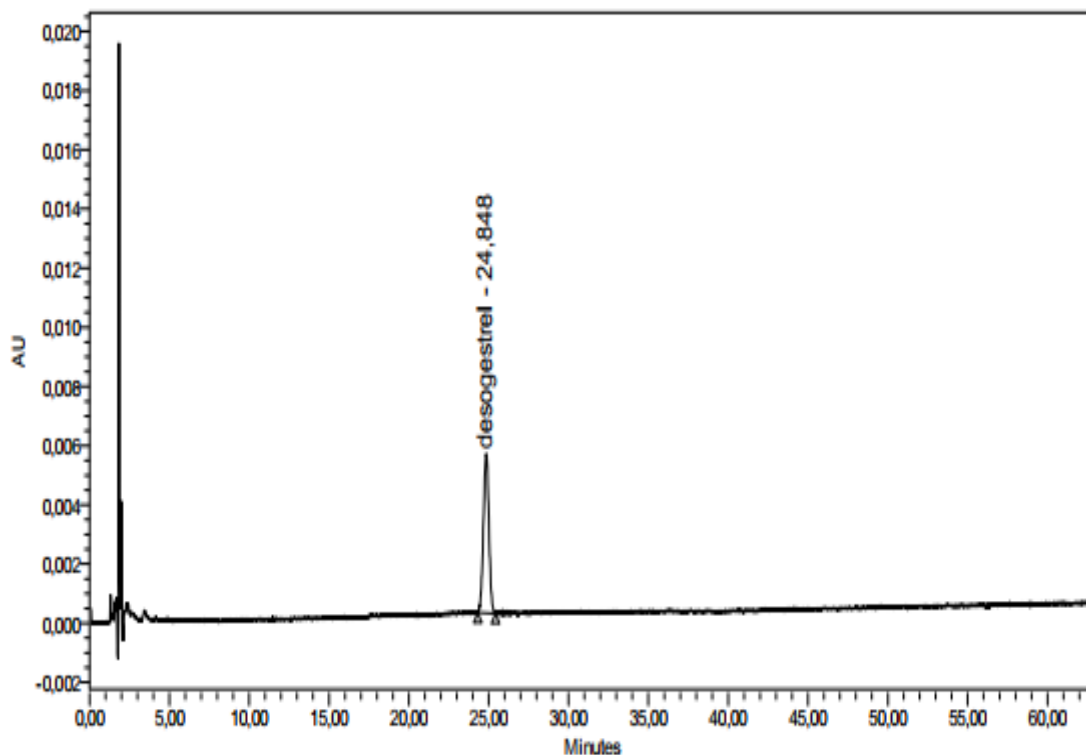


	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	3-hydroxy desogestrel	4,150			
2	3-keto desogestrel	4,741	6498	0,05	754
3	desogestrel	25,111	12939699	99,95	515381

	EP Plate Count	Symmetry Factor	EP Plate Count	Resolution
1				
2	8,829479e+003	1,857486e+000	8,829479e+003	
3	2,294588e+004	1,009446e+000	2,294588e+004	4,722942e+001



Figure 46: chromatographe obtenu avec la solution A

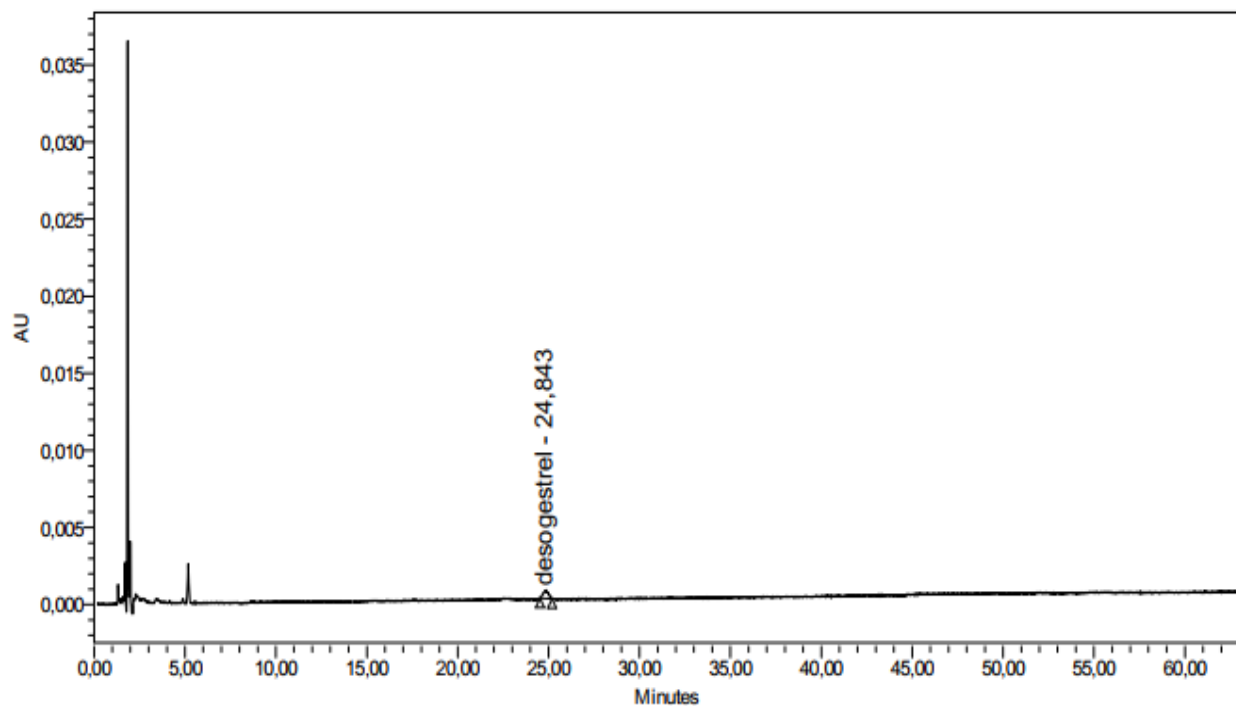


	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	EP Plate Count
1	3-hydroxy desogestrel	4,150				
2	3-keto desogestrel	4,741				
3	desogestrel	24,848	129470	100,00	5365	2,414993e+004

	Symmetry Factor	EP Plate Count	Symmetry Factor
1			
2			
3	9,899925e-001	2,414993e+004	9,899925e-001



Figure 47 : chromatographe obtenu avec la solution B



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	EP Plate Count
1	3-hydroxy desogestrel	4,150				
2	3-keto desogestrel	4,741				
3	desogestrel	24,843	10977	100,00	557	3,135031e+004

	Symmetry Factor	EP Plate Count	Symmetry Factor
1			
2			
3	1,078272e+000	3,135031e+004	1,078272e+000

Figure 48: chromatographe obtenu avec la solution C



## ✓ Calcul du pourcentage de 3-kéto-désogestrel :

- ✓ **Facteur de correction** : pour le calcul de la teneur, on multiplie la surface du pic de 3-kétodésogestrel par le facteur de correction correspondant (**1,5**) selon la **Ph Eur**.  
 ⇒ Donc la surface de 3-kétodésogestrel après la correction devient : **6498 \* 1,5 = 9747**
- ✓ La surface du pic correspondant au 3-kétodésogestrel dans la solution A (Echantillon) est égale **9747** qui n'est pas plus importante que la surface du pic principale (pic de Désogestrel) de chromatogramme obtenu avec la solution C qui est égale à **10977**. Donc on dit que le 3-kétodésogestrel est répond aux normes de la pharmacopée Européenne.

La solution A contient :  $20 \times 10^{-3}$  g de désogestrel dans 50ml de solvant S

$$\longrightarrow C_{\text{solA}} = \frac{20}{50} \times 10^{-3} = 0,4 \times 10^{-3} \text{ g/ml} = 400 \mu\text{g/ml}$$

La solution C contient 0,00004% en désogestrel

$$\longrightarrow C^{\text{solC}} = \frac{0,00004}{100} = 0,04 \text{ mg /100ml} = 0,4 \mu\text{g/ml}$$

Calcule du pourcentage du désogestrel de la solution C par rapport à la solution A :

$$\begin{array}{l} 400 \mu\text{g/ml} \longrightarrow 100\% \\ 0,4 \mu\text{g/ml} \longrightarrow X \longrightarrow X = \frac{0,4}{400} = 0,001\% \end{array}$$

Calcule du pourcentage du 3-kéto-désogestrel :

$$\begin{array}{l} 10977 \longrightarrow 0,1\% \\ 9747 \longrightarrow Y \longrightarrow Y = \frac{9747 \times 0,1}{10977} = 0,08\% \end{array}$$

- ✓ Ainsi, le pourcentage du 3-kéto-désogestrel est inférieur à la limite de la dite impureté selon la pharmacopée européenne à savoir 0,1%.



### III.2 Produit X :

Afin de préserver la confidentialité du produit, qui utilise une méthode interne pour l'analyse de l'éthanol comme impureté, il a été décidé de le désigner comme produit X, qui est sous forme de comprimé.

- **Impureté du produit X :**

L'un des impuretés de notre produit d'étude est l'éthanol, considéré comme solvant organique, volatil avec une odeur caractéristique et incolore.

A court terme, l'éthanol a une activité dépressive sur le système nerveux central (psychotrope), à long terme est reconnu comme tératogène.

#### III.2.1 Dosage de l'éthanol dans le produit X :

➤ **Matériel et méthode :**

La détermination analytique de l'éthanol résiduel dans le produit X, est réalisée par CPG en espace de tête ( headspace gaschromatography HS-GC ).

La séparation est effectuée sur une colonne recouverte d'une couche de silice fondue, comme phase stationnaire, puis détecté par un détecteur de flamme à ionisation FID.

##### 1) Matériel :

- **Equipement :**

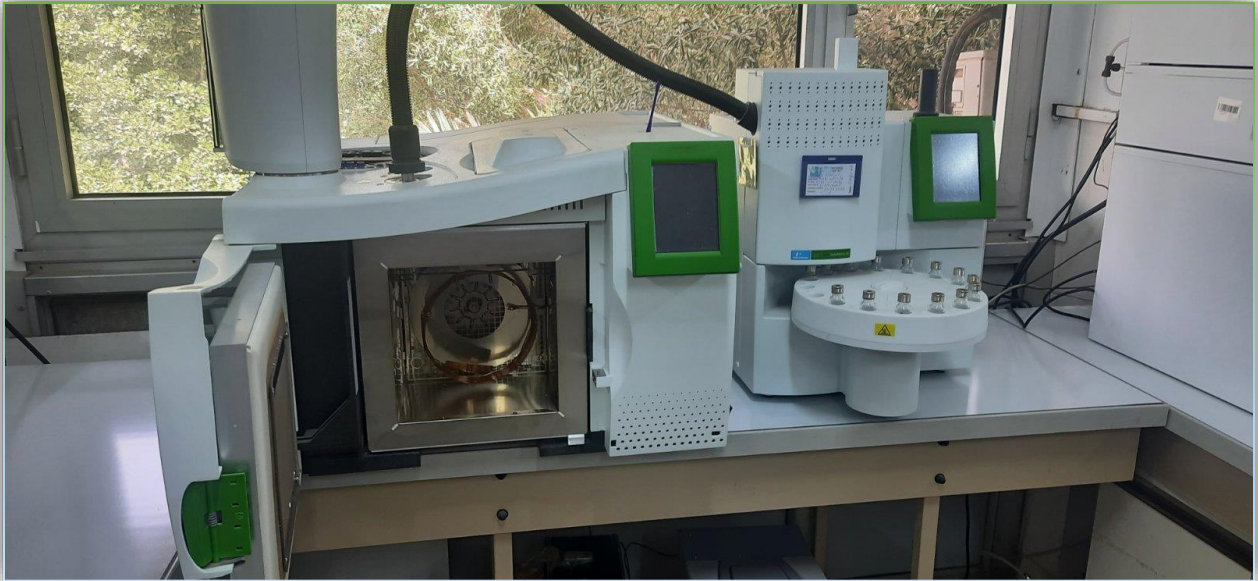
- Une balance analytique
- Un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un Headspace, avec un détecteur à flamme d'ionisation.
- Des béchers en verre
- Des fioles volumétriques
- Des pipettes volumétriques
- Agitateur magnétique





- **Réactifs :**
  - Eau purifiée
  - Hydroxyde de sodium
  - 85% acide phosphorique
- **Appareillages et conditions opératoires :**

Chromatographie en phase gazeuse en espace de tête marque Clarus 580, équipé d'un FID.



**Figure 49 Chromatographie en phase gazeuse en espace de tête marque clarus 580 équipé d'un FID**

**Les conditions chromatographiques :**

- Colonne recouverte d'une couche de silice fondue avec 6% de Cyanopropylphenyl et 94% de dimethylpolysiloxane (30mX 0,32mm X 1,8 $\mu$ m).
- Gaz vecteur : Helium
- Température du port d'injection : 140°C
- FID température : 250°
- Débit de l'hydrogène : 30ml/min
- Débit de l'air : 300ml/min

**Les paramètres de l'espace de tête:**

- Le volume d'injection : 1ml
- Température du four : 80°C
- La température de la ligne de transfert : 85°C
- Temps d'équilibration



## 2) Méthodes :

La détermination quantitative de l'éthanol résiduel est obtenue par une méthode de calibration par un standard externe.

Notre échantillon est traité par l'hydroxyde de sodium dilué afin de dissoudre le film de pelliculage gastro-résistant, qui est très soluble à PH alcalin.

Ainsi, la valeur du PH alcalin de la solution utilisée pour dissoudre l'échantillon va hydrolyser complètement le triéthylcitrate du film de pelliculage qui produit une quantité connue de l'éthanol.

Par conséquent, la quantité de l'éthanol dérivé de triéthylcitrate doit être soustraite de l'éthanol total.

$$\text{Ethanol}_{\text{résiduel}} = \text{Ethanol}_{\text{total}} + \text{Ethanol}_{\text{triéthylcitrate}}$$

- **Préparation du solvant :**

On pèse 25,2g de l'acide phosphorique  $\text{H}_3\text{PO}_4$  dilué 85% p/p.

Dans une fiole de 50ml on met notre quantité de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  et on complète avec de l'eau à 50ml.

- **Préparation des solutions :**

- ❖ **Solution 1 :**

- On pèse 800mg de l'éthanol S (Standard) dans une fiole de 100ml et on complète avec de l'eau au trait de jauge.
- Avec une pipette graduée, on prend 2,5ml de la solution et on la met dans une fiole de 200ml, on ajoute 180ml de l'hydroxyde de sodium 0,2M et 4,0ml de l'acide phosphorique dilué.
- On complète avec de l'eau au trait de jauge.

- ❖ **Solution 2 :**

- On pèse 20 comprimés du produit X,  $P_{20\text{comprimé}} = 3,2702\text{g}$ .
- Dans une fiole de 250ml, on met nos 20 comprimés et on ajoute 200ml de l'hydroxyde de sodium de 0,2M.
- On attend environ 6 heures, la désintégration de nos comprimés dans la solution dans un agitateur magnétique
- On ajoute 10ml de l'acide phosphorique dilué et on complète à 250ml avec de l'eau.

➤ **Discussion et interprétation des résultats :**

L'essai n'est valable que si :

- ✓ Dans le chromatogramme obtenu avec la solution standard (Solution 1), l'écart type relatif (**RSD**) pour le pic de l'éthanol est inférieur à 10%.



- ✓ Le nombre des plateaux théorique N du pic de l'éthanol S dans la solution 1 n'est pas moins de 2000.

$$N = 5,54 (t_r / w_{h/2})^2$$

$t_r$  = temps de rétention

$w_{h/2}$  = la largeur du pic à mi-hauteur

Le calcul de RSD et nombre de plateaux théoriques N ont été effectué automatiquement par le logiciel de notre équipement.

	Ret. Time [min]	Peak Area [uV*sec]	Peak Height [uV]	N Tan [plates]	N Foley [plates]	Tail Fact	k'	Resln	Alpha	S/N	PW Base [sec]	PW 0.05 [sec]	PW 0.10 [sec]
ETHANOL (n=2)													
Mean :	3,325	7092	2121	21771,23	22436,85	1,128	N/A	N/A	N/A	217,116	5,409	6,190	5,477
% RSD :	0,01	4,74	2,79	2,40	2,24	1,05	N/A	N/A	N/A	24,177	1,19	0,842	1,411

**Figure 50 : Résultats numériques pour conformité de système**

Ainsi, le RSD et N sont inférieurs à 10% et supérieur 2000 respectivement pour les deux paramètres comme indiqué dans la figure ci-dessus.

*On conclut que notre essai est valable pour interpréter les résultats obtenus*

• **Calcul :**

- ✓ On calcule la concentration de l'éthanol dans la solution 1 (Standard)

$$C_{\text{éthanol Sol1}} = 800/100 \times 2,5/200 = \mathbf{0,1mg/ml}$$

- ✓ On calcule l'éthanol total en p.p.m selon la formule indiquée ci-dessous :

$$\mathbf{\text{Total éthanol} = A_{\text{sol2}} / A_{\text{sol1}} \times C_{\text{éthanol sol1}} \times 250 / P_{20\text{comprimé}}}$$

$A_{\text{sol2}}$  = L'air du pic de l'éthanol dans la solution 2 (solution simple) mg/ml

$A_{\text{sol1}}$  = L'air du pic de l'éthanol dans la solution 1 (Standard solution) mg/ml

**250** = Dilution de la solution 2

$P_{20\text{comprimé}}$  = poids moyen des 20 comprimés en Kg



Les aires des pics de l'éthanol dans les deux solutions sont indiquées dans les figures des chromatogrammes ci-dessous :

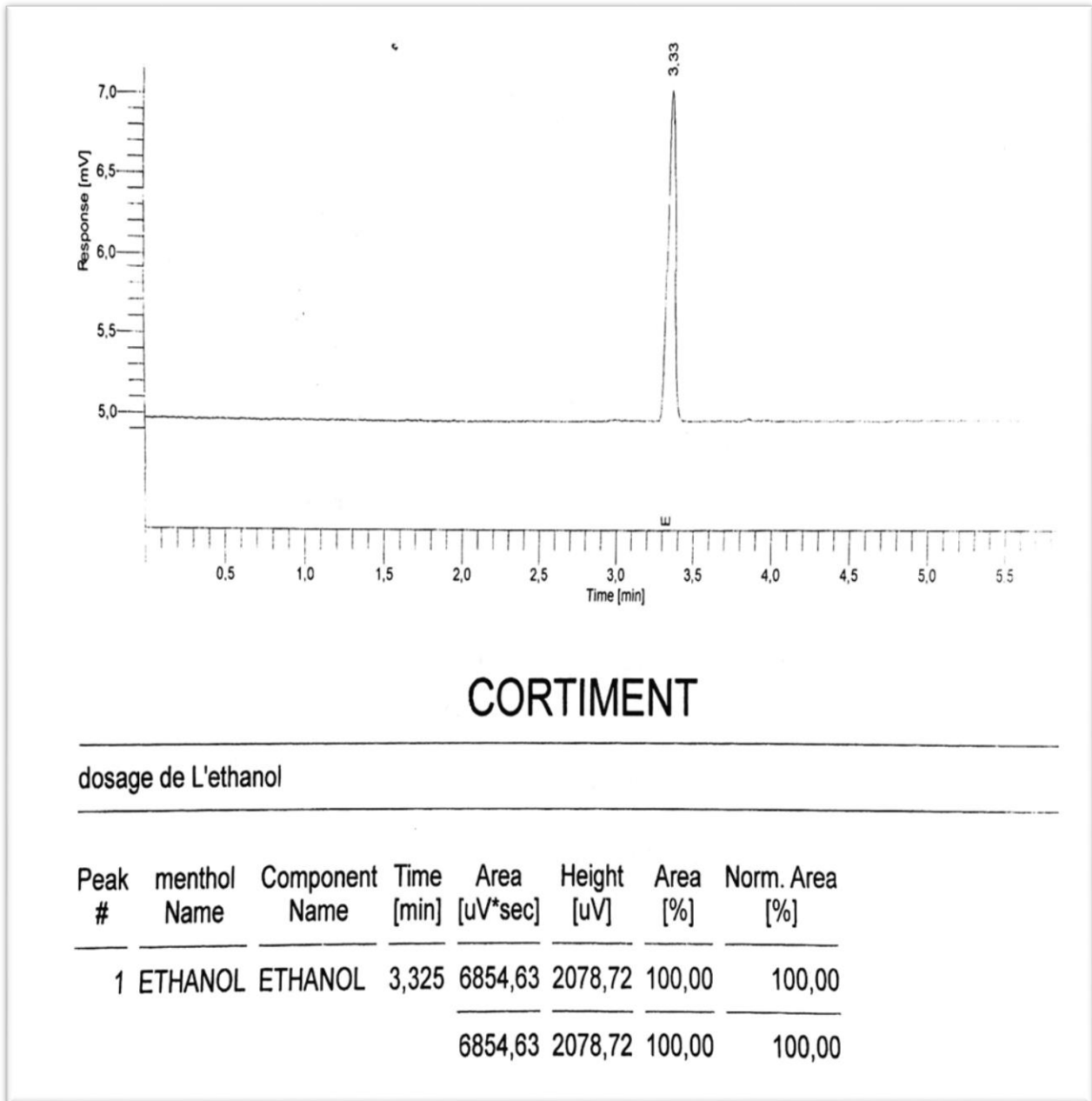


Figure 51: Chromatogramme de la solution 1

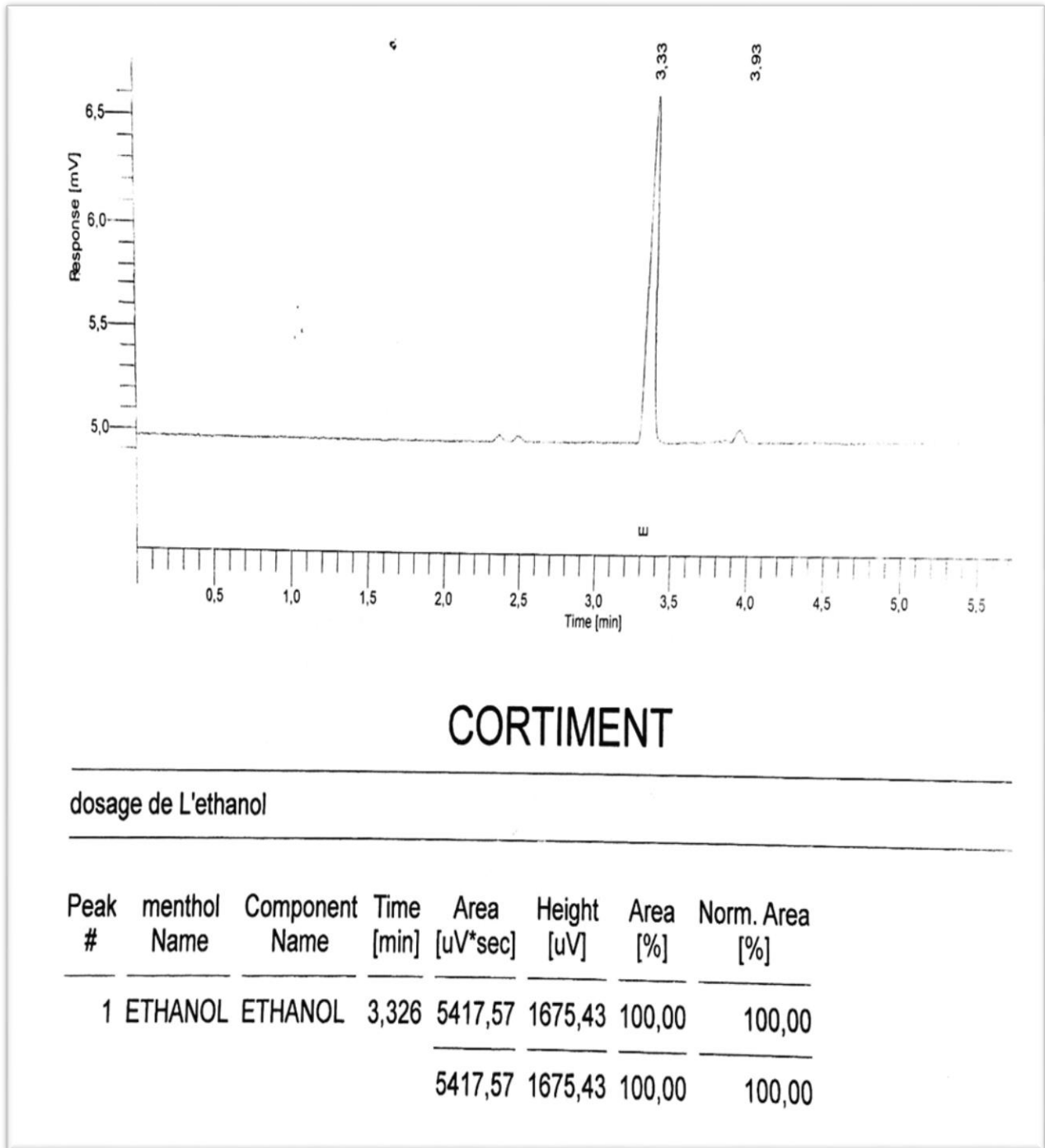


Figure 52 : Chromatogramme de la solution 2



Afin d'obtenir l'éthanol résiduel dans notre produit X, on soustrait l'éthanol du film de pelliculage, équivalent à 2425p.p.m

Par simple remplacement numérique dans l'équation précédente on obtient :

$$\text{Total éthanol} = 5417,57 / 6854,63 \times 0,1 \times 250 / 3,2702 \times 10^{-3} = \mathbf{6042,01}$$

On a aussi  $\longrightarrow$   $\text{Ethanol}_{\text{résiduel}} = \text{Ethanol}_{\text{total}} + \text{Ethanol}_{\text{triéthylcitrate}}$

Il en résulte :

$$\text{Ethanol}_{\text{résiduel}} = 6042,01 - 2425 = \mathbf{3617,07 \text{ p.p.m}}$$

✓ Ainsi, le résultat est inférieur à 5000ppm comme le définit l'ICH dans le Q3D.



# CONCLUSION

## Conclusion

Le produit pharmaceutique occupe une place prépondérante dans le système de santé. Afin d'en préserver cet acquis, la qualité et la sécurité de ce produit doivent en être assurées.

Notre projet de fin d'étude que nous avons exposé, avait pour objet l'étude des impuretés dans le médicament et portait sur:

- L'aspect réglementaire, à savoir les différentes instances internationales de réglementation et leurs directives.
- Les méthodes d'analyse, à savoir la description des méthodes chromatographiques, spectroscopiques et autres

Aussi, la maîtrise de l'aspect réglementaire et des méthodes d'analyse est-elle primordiale pour le contrôle et le profilage des médicaments.

Par ailleurs, s'agissant de la partie pratique, le projet s'est intéressé aux deux types d'impuretés :

- ✓ L'éthanol comme solvant résiduel
- ✓ Le 3-kéto-désogestrel comme impureté organique.

Le résultat du dosage de l'éthanol dans le produit X, correspond à la directive Q3D de l'ICH qui définit l'éthanol comme un solvant de classe 3, dont la limite est fixée à 50mg/j, soit pas plus de 5000ppm.

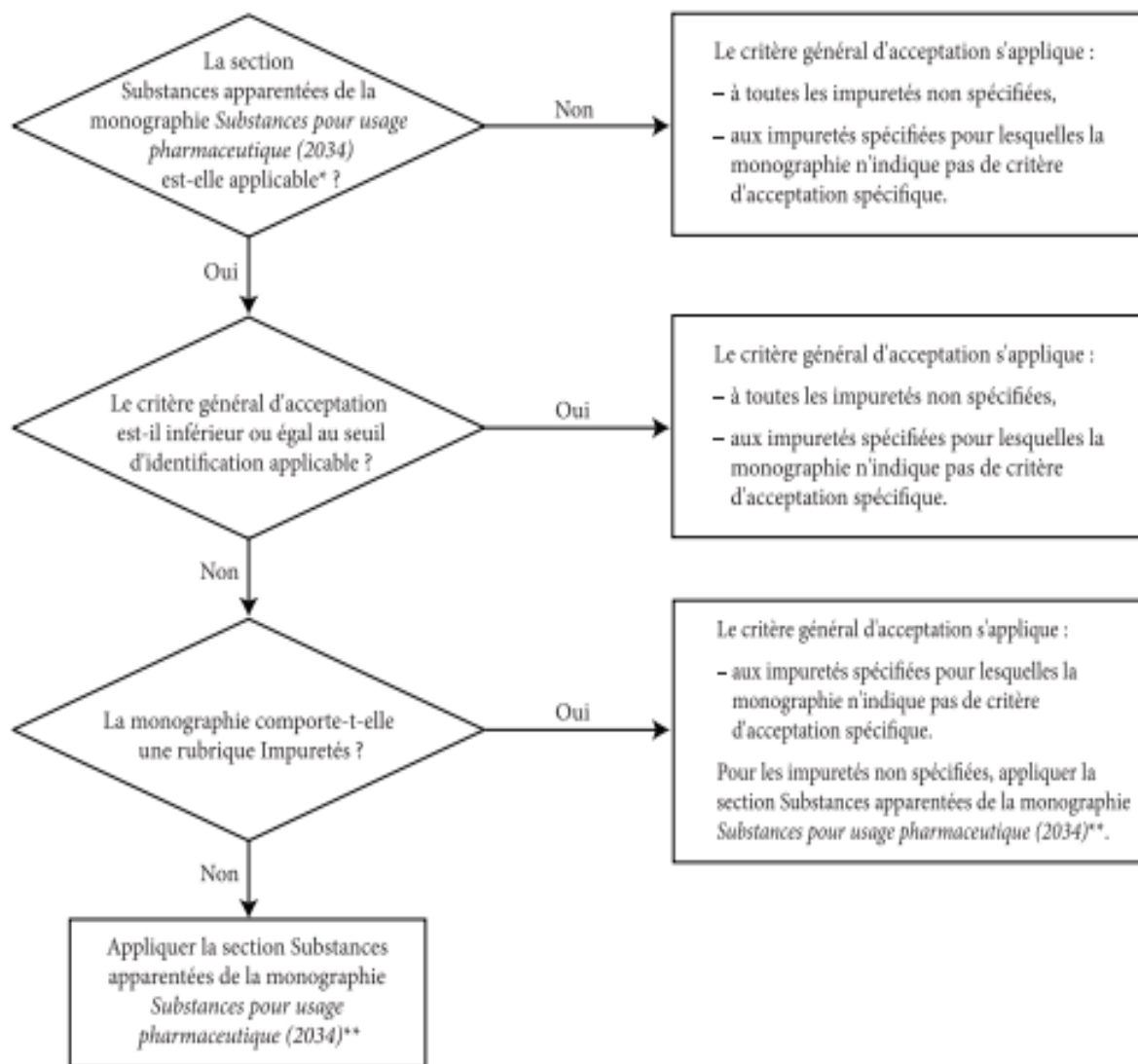
Quant aux résultats de comparaison pour le 3-kéto-désogestrel entre deux méthodes de référence, à savoir la pharmacopée européenne et l'USP, elles ont été productives. Elles ont permis de démontrer la compatibilité des résultats, avec, d'une part, celle utilisant le facteur de correction et l'autre utilisant le standard impurété, tout ceci dans les mêmes conditions de travail.



## ANNEXES

### ANNEXE I:

**Figure A :** Arbre de décision relatif à l'interprétation des critères généraux d'acceptation pour les « autres » impuretés dans les monographies.

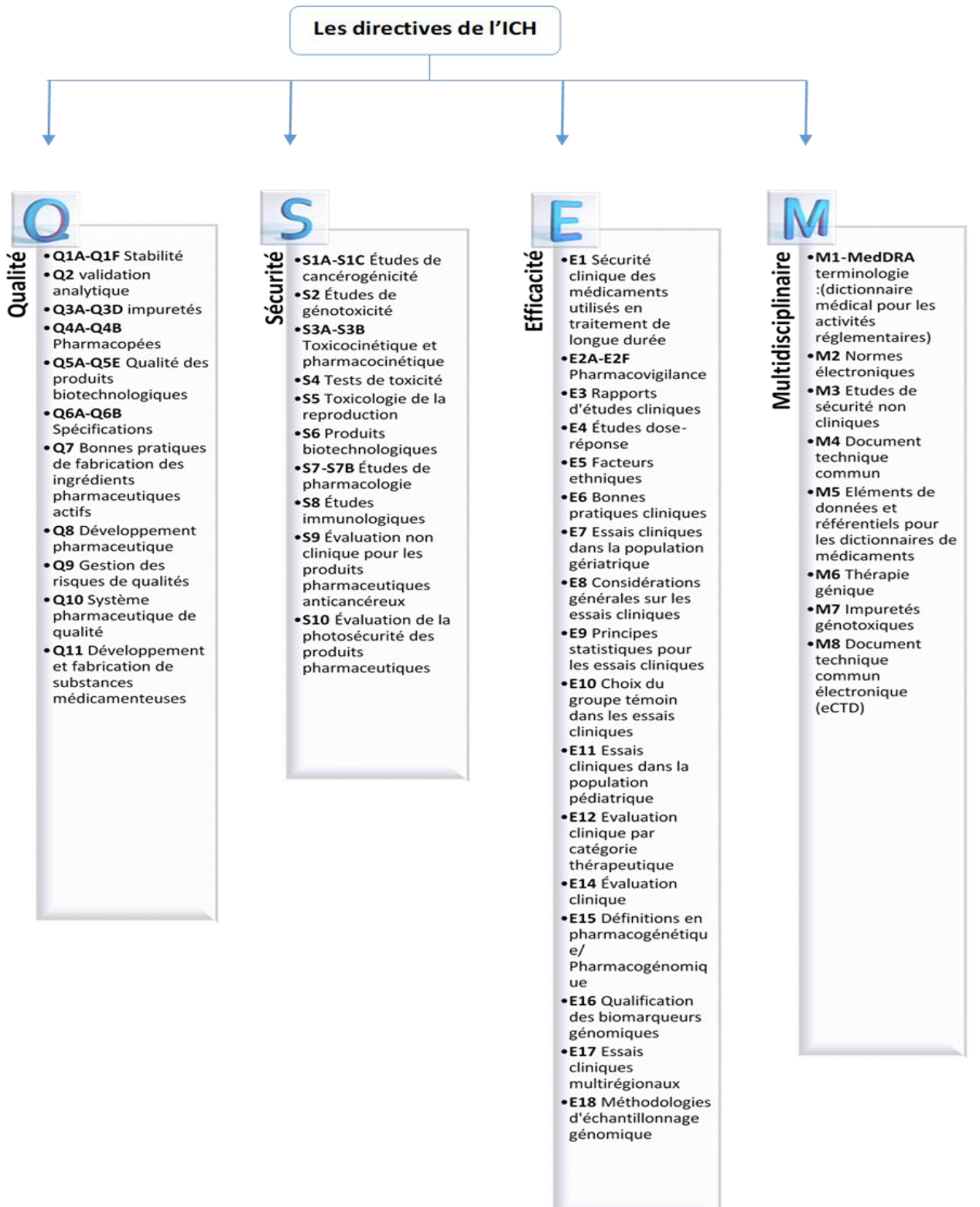


\* Les exigences de cette section s'appliquent aux substances actives sauf : produits biologiques ou biotechnologiques, oligonucléotides, produits radiopharmaceutiques, produits de fermentation et produits hémisynthétiques dérivés, produits bruts d'origine animale ou végétale, produits à base de plantes.

\*\* Application de la section Substances apparentées de la monographie *Substances pour usage pharmaceutique (2034)* :

- un critère d'acceptation individuel doit être défini pour toute impureté susceptible d'être présente à une teneur supérieure au seuil d'identification,
- toute impureté à laquelle est appliqué un critère d'acceptation supérieur au seuil d'identification doit être identifiée (dans la mesure du possible),
- toute impureté à laquelle est appliqué un critère d'acceptation supérieur au seuil de qualification doit être qualifiée.

**Figure B** : Les différentes directives de l'ICH



## ANNEXE 2 : Seuils applicables aux produits de dégradation d'un nouveau produit

### Seuils de déclaration

<u>Dose quotidienne maximale</u> <sup>1</sup>	<u>Seuil</u> <sup>2,3</sup>
≤ 1 g	0,1 %
> 1 g	0,05 %

### Seuils de caractérisation

<u>Dose quotidienne maximale</u> <sup>1</sup>	<u>Seuil</u> <sup>2,3</sup>
< 1 mg	DQT de 1,0 % ou de 5 µg (valeur la plus faible)
1 mg - 10 mg	DQT de 0,5 % ou de 20 µg (valeur la plus faible)
> 10 mg - 2 g	DQT de 0,2 % ou de 2 mg (valeur la plus faible)
> 2 g	0,10 %

### Seuils de qualification

<u>Dose quotidienne maximale</u> <sup>1</sup>	<u>Seuil</u> <sup>2,3</sup>
< 10 mg	DQT de 1,0 % ou de 50 µg (valeur la plus faible)
10 mg - 100 mg	DQT de 0,5 % ou de 200 µg (valeur la plus faible)
> 100 mg - 2 g	DQT de 0,2 % ou de 3 mg (valeur la plus faible)
> 2 g	0,15 %

## Bibliographie

- [1] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), "Impurities in New Drug Substances Q3A(R2)," October 2006, p. 15, 2006
- [2] International Conference on Harmonisation, "Q3B (R2): Impurities in New Drug Products," June, p. 12, 2006 .
- [3] Fenghe Qiu & Daniel L. Norwood & Boehringer Ingelheim. "Identification of Pharmaceutical Impurities", Pharmaceuticals Inc., Ridgefield, Connecticut, USA Version of record first published: 07 Mar 2007.
- [4] European Medicines Agency (EMA), "ICH guideline Q3D on elemental impurities," vol. 44, no. July 2016, 2015.
- [5] S. Husain and R.N. Rao, Proc. Control Qual. 10, 41–57 (1997)
- [6] European Pharmacopoeia, 3rd edn, Council of Europe, Strasbourg (1997)
- [7] S. Gorog, G. Balogh, A. Csehi, E . Csizer, M. Gazdag, Zs. Halmos, B. Hegedus, B. Herenyi, P. Horvath and A. Lauko, J. Pharm. Biomed. Anal. 11, 1219–1226 (1993)
- [8] S. Gorog, in Steroid Analysis in the Pharmaceutical Industry. (S. Gorog, Ed.), pp 181–211, Ellis Horwood, Chichester (1989)
- [9] onference et al. "REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE ICH H ARMONISED T RIPARTITE GUIDELINE I MPURITIES : G UIDELINE FOR R ESIDUAL SOLVENTS," no. November 2005, 2011.7
- [10] Anne D. "Validation d'une méthode de recherche de traces de solvants résiduels par Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'espace de tête". university of NANTES, 2015. 1 vol. (137 f.)
- [11] Bonnes Pratiques de Fabrications, bulletin officiel n°2011/8 bis.

[12] International Conference on Harmonisation B, “Q3C (R8): IMPURITIES: GUIDELINE FOR RESIDUAL SOLVENTS”, Avril 2021

[13] Thiaw S., Méthodes d’analyse des impuretés élémentaires dans les produits finis, les substances actives et excipients : revue systématique, UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 2020.

[14] ICH Q3D Elemental Impurities, in ICH Quality Guidelines. p. 233-280.

chapitre 2:

[15] Bercu JP, Galloway SM, Parris P, Teasdale A, Masuda-Herrera M, Dobo K, et al. Potential impurities in drug substances: Compound-specific toxicology limits for 20 synthetic reagents and by-products, and a class-specific toxicology limit for alkyl bromides. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. avr 2018;94:172-82.

[16] I. Jacobsonkram D, MCGovern T. Toxicological overview of impurities in pharmaceutical products. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 10 janv 2007;59(1):38-42.

[17] Chelab: Mérieux NutriSciences - Nitrosamines analysis (brochure) [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://www.cphi-online.com/the-determination-of-nitrosamine-impurities-on-file120669.html>

[18] Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles. Dossier web : Les solvants. (Mise à jour le 21/10/2010). [En ligne]. Disponible sur <http://www.inrs.fr>. (Page consultée le 27 mars 2011)

[19] BAUER M. Analyse des solvants résiduels dans les produits pharmaceutiques. 20 p. [En ligne]. Disponible sur <http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesuresanalyses-th1/qualite-et-securite-au-laboratoire-ti620/analyse-des-solvants-residuels-dans-les-produits-pharmaceutiques-p3260/>. (Page consultée le 9 novembre 2010)

[20] Pharmacopée Européenne 8ème Edition, chapitre 4 solvants résiduels (01/2008:50400)

[21] Futura. Le magazine de votre santé [Internet]. Accessed 18/04/2022. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com>

Plomb

[22] Chapitre 63 - Les métaux: propriétés chimiques et toxicité [Internet]. Disponible sur: <https://www.ilocis.org/fr/documents/ilo063.htm>

[23] Amara A, Bisson M, Hulot C, Marescaux N. Plomb et ses dérivés inorganiques [Internet]. INERIS, Institut national de l'environnement industriel et des risques ; 2016. Disponible sur : <https://substances.ineris.fr/fr/substance/getDocument/9987>

[24] Abadin H, Taylor J, Buser M, Scinicariello F, Przybyla J, Klotzbach JM, et al. Toxicological Profile for Lead [Internet]. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); 2020. Disponible sur : <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>

[25] Fiche toxicologique n°59 du plomb et composés minéraux [Internet]. Institut nationale de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles (INRS).; 2020. Disponible sur: [https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX\\_59](https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_59)

#### Arsenic

[26] Fiches toxicologiques - Publications et outils - INRS. <https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox.html>

#### Hg

[27] Miquel G. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. [Internet]. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, Sénat ; 2001 avr p. 346. Report No.: N°261. Disponible sur : <https://www.senat.fr/rap/100-261/100-2611.pdf>

[28] Risher J, DeWoskin R. Toxicological profile for Mercury [Internet]. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); 1999. Disponible sur : <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.pdf>

[29] Farron O, Ashizawa A, Wright S, Tucker P, Jenkins K, Ingerman L, et al. Toxicological profile for Cadmium [Internet]. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); 2012. Disponible sur: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp5.pdf>

[30] Kazantzis G, Lam TH, Sullivan KH. Mortality of cadmium-exposed workers. A five-year update.  
Scand J Work Environ Health. août 1988;14(4):220-3.

#### Classe 2A

[31] Ait-Mansour Y., Contrôle des impuretés élémentaires dans les médicaments, enjeux et application de la directive ICHQ3D  
au sein d'un site de production pharmaceutique, UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1, 2020. p48-50.

#### Classe 2B

[32] Santé et sécurité au travail - INRS [Internet]. [cité 20 août 2022]. Disponible sur:  
<https://www.inrs.fr/>

#### Classe 3

[33] Ait-Mansour Y., Contrôle des impuretés élémentaires dans les médicaments, enjeux et application de la directive ICHQ3D  
au sein d'un site de production pharmaceutique, UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1, 2020. p55

[34] Liu KT, Chen CH. Determination of Impurities in Pharmaceuticals: Why and How? In: Pereira P, Xavier S, editors. Quality Management and Quality Control - New Trends and Developments [Internet]. IntechOpen; 2019 [cited 2022 Aug 20].

[35] La Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) 10e Édition - Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé [Internet]. [cited 2022 Aug 20]. Available from:  
<https://www.edqm.eu/fr/web/edqm/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition->

[36] Pharmacopée européenne : normes de qualité des médicaments [Internet]. EUPATI Toolbox. 2015 [cited 2022 Aug 20]. Available from:  
<https://toolbox.eupati.eu/resources/pharmacopoee-europeenne-normes-de-qualite-des-medicaments/?lang=fr>

[37] E. Pont, —Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique selon la pharmacopée européenne:Evolution des connaissances et des méthodes analytiques de contrôle, Université de Limoges, 2011.

[38] ANNEXE 3. MÉTHODES RELATIVES À L'ÉTABLISSEMENT DE LIMITES D'EXPOSITION, La Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.)

- [39] International Conference of Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology Q2 (R1). November 2005. 17 p. [En ligne]
- [40] Kolla C. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION: AN OVERVIEW. International Journal of Drug Regulatory Affairs. 12 févr 2018;2:19 26
- [41] Kamal Ambalia. Impurities in Drug Substance & in Drug Product [Internet]. 22:52:20 UTC [cité 20 août 2022]. Disponible sur: <https://www.slideshare.net/KamalAmbalia/impurities-in-drug-substance-in-drug-product>
- [42] Vinit Gohel. ICH Q3B (R2):Impurities in new drug products [Internet]. 09:17:17 UTC [cité 20 août 2022]. Disponible sur: <https://www.slideshare.net/VinitGohel2/impurities-in-new-drug-products>
- [43] ManiKandan1405. Rationale for the reporting control of degradation products [Internet]. 14:21:36 UTC [cité 20 août 2022]. Disponible sur: [https://www.slideshare.net/ManiKandan1405/rationale-for-the-reporting-control-of-degradation-products\\_chapitre\\_4](https://www.slideshare.net/ManiKandan1405/rationale-for-the-reporting-control-of-degradation-products_chapitre_4)
- [44] Francis Rouessac, Annick Rouessac, Avec la collaboration de Daniel Cruché, analyse chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes, edition 6, 2004.
- [45] Pr. Franck DENAT,Chromatographie,2010
- [46] applications in HPLC in pharmaceutical analysis [Internet]. [cité 20 août 2022]. Disponible sur: [https://www.researchgate.net/publication/338166319\\_applications\\_in\\_HPLC\\_in\\_pharmaceutical\\_analysis?enrichId=rgreq-ae8fdb3db1c762c08a707c224bc5b90-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzMzODE2NjMxOTtBUzo4NDI1MzczMTCxOTU3NzZAMTU3Nzg4Nzk1ODQ1Nw%3D%3D&el=1\\_x\\_3&\\_esc=publicationCoverPdf](https://www.researchgate.net/publication/338166319_applications_in_HPLC_in_pharmaceutical_analysis?enrichId=rgreq-ae8fdb3db1c762c08a707c224bc5b90-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzMzODE2NjMxOTtBUzo4NDI1MzczMTCxOTU3NzZAMTU3Nzg4Nzk1ODQ1Nw%3D%3D&el=1_x_3&_esc=publicationCoverPdf)
- [47] Fiche sur la technique de la chromatographie sur couche mince [Internet]. CultureSciences-Chimie. [cité 20 août 2022]. Disponible sur: <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/chromatographie/fiche-sur-la-technique-de-la-chromatographie-sur>
- [48] L3 BVA 19-20 Analyse instrumentale Chaouchi. La chromatographie en phase gazeuse (CPG). Disponible sur: <https://fsnv.univ-setif.dz/images/telecharger/BEV/L3%20BVA%2019-20%20Analyse%20instrumentale%20Chaouchi.pdf>



[49] La chromatographie en phase gazeuse: principe [Internet]. CultureSciences-Chimie. [cited 2022 Aug 21]. Available from: <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/chromatographie/la-chromatographie-en-phase-gazeuse-principe>

[50] Martinand-Lurin E, Grüber R. 40 expériences illustrées de chimie générale et organique: la chimie, une science expérimentale. Bruxelles: De Boeck; 2012. (Licence maîtrise doctorat).

[51] <https://elearn.univ-tlemcen.dz>

[52] Les spectroscopies, Cours Biochimie Clinique Med A4, Disponible sur: <https://fac.umc.edu.dz>

[53] ADMINISTRATEUR. Spectroscopie d'absorption atomique [Internet]. Chimie Analytique. 2019 [cité 21 août 2022]. Disponible sur: <https://chimieanalytique.com/spectrophotometrie-absorption-atomique>

[54] Laboratoire d'analyses par ICP-MS. FILAB. [cité 21 août 2022]. Disponible sur: <https://filab.fr/nos-moyens-techniques/laboratoire-analyse-icp-ms/>

[55] Mariet C., Geertsen V. Analyse par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS) [Internet]. [cité 21 août 2022]. Disponible sur: [https://iramis.cea.fr/Phocea/Vie\\_des\\_labos/Ast/ast\\_sstechnique.php?id\\_ast=348](https://iramis.cea.fr/Phocea/Vie_des_labos/Ast/ast_sstechnique.php?id_ast=348)

[56] Mermet, J.M., Use of magnesium as a test element for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry diagnostics. *Analytica Chimica Acta*, 1991. 250: p. 85-94.

[57] Thiaw S., Méthodes d'analyse des impuretés élémentaires dans les produits finis, les substances actives et excipients : revue systématique, UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 2020.

<b>BENTCHIKOU.M</b>	<b>BENAISSA Ibrahim</b>	<b>BENAZIZA Sofiane</b>
<b>Tc-mouh @hotmail.fr</b>	<b>ibrahimben427@gmail.com</b>	<b>benaziza.sf@gmail.com</b>

### Résumé :

L'assurance de la qualité, l'efficacité et la sécurité d'un produit pharmaceutique est une préoccupation majeure. C'est ainsi que les trois types d'impuretés, à savoir, impuretés organiques, impuretés élémentaires et solvant résiduel doivent être contrôlées, dosées et qualifiées selon les directives et guidelines internationales, qui décrivent aussi, les méthodes analytiques requises pour ces analyses.

Cependant, deux analyses ont été effectuées pour deux types d'impuretés : Impureté organique (3-kéto-désogestrel) dont l'objet était de vérifier la compatibilité par la comparaison de deux méthodes, une qui utilise les standards impuretés (USP) , une le facteur de correction (Ph.eur). Les résultats de cette étude ont été probants, ont permis de montrer la compatibilité des dosages effectués, d'où l'intérêt de cette expérience basée sur la comparaison des deux méthodes.

Solvant résiduel (éthanol), dont les résultats de dosage de cette dernière correspondaient à la limite fixée par l'ICH.

**Les mots clés :** Impureté, industrie pharmaceutique, méthode d'analyse, HPLC, CPG,CCM, aspect réglementaire, 3-kéto-désogestrel, éthanol, dosage, contrôle, qualité

### Abstract :

Quality assurance, efficacy and safety of a pharmaceutical product is a major concern. Therefore, all three types of impurities, namely organic impurities, elemental impurities and residual solvent must be controlled, assayed and qualified according to international guidelines, which also describe the analytical methods required for these analyses.

However, two analyses were performed for two types of impurities: Organic impurities (3-Keto-desogestrel), the purpose of which was to verify compatibility by comparing two methods, one using the impurity standards (USP), the other using the correction factor (Ph.eur). The results of this study were conclusive, showing the compatibility of the assays performed, hence the interest of this experiment based on the comparison of both methods. Residual solvent (ethanol), for which the results of the determination of the latter corresponded to the limit set by the ICH.

**Key words:** Impurity, pharmaceutical industry, analytical method, HPLC, GPC, TLC, regulatory aspect, 3-Keto-desogestrel, ethanol, Assay quality, control.

