**CHAPITRE 2**

**Principaux éléments d’une stratégie analytique**

**Caractérisation d’un problème d’analyse**

Questions à se poser afin de concevoir une stratégie d’analyse

Aspects liés au type de médicament (mélanges complexes, PA synthétique, etc.),

Aspects liés a l’échantillonnage…..

**INTRODUCTION**

Le contrôle qualité peut être de deux types:

**1. Qualitatif:** tel que l’identification par IR/HPLC ou les caractères organoleptiques (odeur, couleur, aspect …)

**2. Quantitatif:** c’est tous les paramètres qui peuvent être exprimés par une valeur. Les plus importants sont le dosage PA, Dosage impuretés, Teneur en Eau, masse. Certains paramètres tels que l’écoulement d’une poudre ou la solubilité sont des paramètres qualitatifs (bon, moyen, mauvais) sur lesquels la pharmacopée a pu éliminer l’aspect subjectif et donner des limites numériques.

**La chimie analytique** a été mise à contribution afin d’effectuer ces contrôles qualité. La chimie analytiqueest une branche de la chimie qui s'intéresse à la détermination et au dosage de composés. Elle met en oeuvre des techniques de pointe nécessitant des instrumentations coûteuses.

Avant de pouvoir procéder à l'analyse, plusieurs étapes sont nécessaires. La préparation de l'échantillon et sa purification sont des points essentiels. Plusieurs méthodes d'extraction sont disponibles selon la nature du composés et de sa matrice.

Parmi les méthodes de chimie analytique, on peut citer :

* La chromatographie : outil indispensable pour la séparation et l'identification des composés d'un mélange. Il existe 3 grands types de chromatographie : sur couche mince (CCM), liquide (HPLC) et gazeuse (CPG)
* la spectrométrie infra-rouge (IR), la résonnance magnétique nucléaire (RMN) et la spectrométrie de masse (SM) sont 3 techniques complémentaires qui permettent de déterminer la structure des molécules.
* L’absorption atomique pour le dosage des ions tels que le chrome ou le nickel
* La spectrométrie UV/VIS pour les molécules absorbant la lumière entre 190 et 800 nm

Le contrôle qualité des matières premières c’est selon la pharmacopée (exception faite pour quelques rares matières comme les arômes).

Par contre le contrôle qualité des produits finis n’est pas décrit dans la Ph. Eur. mais décrits dans l’USP (U.S.Pharmacopée). Un nombre important de produit fini ne possède aucune monographie même dans l’USP et donc seront contrôlés selon des monographies internes.

**Questions à se poser afin de concevoir une stratégie d’analyse**

Lorsque le pratiquant dans l’industrie pharmaceutique aborde l’étude des médicaments, il possède déjà des notions sur les techniques d’analyse (de chimie analytique, biologie, microbiologie…) bien établis et il devra appliquer ses connaissances générales à des problèmes ponctuels.

Afin de mettre en place une stratégie analytique, il faut répondre à:

* Quoi analyser?
* Par quel référentiel?
* Quel paramètre analyser?
* Par quelle procédure d’analyse?
* Quelle sera la limite d’acceptation?

**Quoi analyser?**

* Forme pharmaceutique? (liquide, semi-solide, sèche)
* Caractéristiques physico-chimiques de la matière à analyser?
* Molécule ou ions?
* Molécule chimique synthétique ou biologique issue de biotechnologie?
* Molécule stable ou instable? (thermosensible …)
* Molécule hydrosoluble ou hydrophobe?
* Enantiomère? (méthode doit être spécifique)

**Quel référentiel?**

Les référentiels pour les spécifications de contrôle qualité des produits pharmaceutiques à usage humains sont les Pharmacopées.

Toutes les méthodes d’analyses qui sont monographiées (Ph. Eur, USP, …) sont validées. ***Selon la Pharmacopée « Validation des méthodes de la Pharmacopée****: Les méthodes d’essai figurant dans les monographies et les chapitres généraux ont été validées selon la pratique scientifique d’usage et les recommandations usuelles sur la validation analytique. Sauf indication contraire dans la monographie ou le chapitre général, une validation de la méthode d’essai par l’analyste n’est pas nécessaire. »*

Si la matière ou produit n’est pas monographie il faudra créer une spécification interne mais toutes les procédures d’analyses développées en interne doivent absolument être validées.

**Quels sont les paramètres d’analyse**?

* **Des matières premières**

Selon la pharmacopée nous avons:

1. Caractères;

2. Identification;

3. Essai;

4. Dosage.

* **Des produits finis**

Paramètres selon l’USP ou interne:

1. Aspect ;

2. Masse moyenne;

3. Essai (teneur en eau, pH, dissolution, désagrégation, uniformité de teneur, uniformité de masse, …);

4. Identification et Dosage du PA;

5. Identification et Dosage de certains excipients a effets notoires;

6. Identification et Dosage des impuretés.

**Par quelle procédure analyser un médicament?**

Après avoir définie les paramètres à contrôler, chaque paramètre est étudié et sa procédure d’analyse est mise en place avec les limites d’acceptation.

Une procédure d’analyse définie les quantités et la manière dont sont utilisés:

* Les réactifs;
* Les standards;
* Les échantillons;
* Les équipements;
* Le consommable des équipements tel que les colonnes d’HPLC;
* Les formules de calcul.

**Comment mettre en place une procédure d’analyse et les critères d’acceptation?**

* ***Certains paramètres tels que l’aspect ou la masse moyenne :*** ne nécessitent pas de procédures très élaborées.
* **Aspect**
* Par contrôle visuel;
* Poudre/comprimé/gélule;
* Couleur;
* Enrobé ;
* Forme (rond, oblong, biconvexe…);
* Trait de sécabilité;
* Gravure (numéro, lettre …); …
* **Masse moyenne**
* Par une balance de précision;
* Nombre de comprimé (10/20);
* Min/max (%).
* ***Pour les essais :*** les procédures sont généralement bien décrites dans la pharmacopée:
* **Teneur en eau**
* **Dissolution/pH**
* **Désagrégation/uniformité de masse/uniformité de teneur/volume délivrable(USP)**
* ***Pour l’identification et dosage :*** (ou ce qu’on appelle aussi Teneur), il y’a deux cas:
* **Produit monographié**
* Suivre la monographie qui est complète: définie la procédure d’analyse et les limites d’acceptation.
* **Produit non monographié**
* Nécessite de mettre en place une procédure d’analyse en interne;
* La méthode la plus utilisée c’est l’HPLC;
* Il faudra développer la méthode (choix des solvants, de la phase mobile, conditions opératoires, …);
* Le cas des principes actifs: Les limites d’acceptations seront 95-105% (selon guideline ICH) mais pourront être modifiées selon le besoin (par exp pour certaines molécules sensibles);
* Le case des excipients (essentiellement les conservateurs et excipients a effets notoires): les limites d’acceptations sont fixés selon les résultats du développement et la toxicité de chaque matière;
* Le cas des impuretés: Les limites d’acceptations seront selon les guidelines ICH (reporting/identification/qualification).

**Analyse de la performance d’une technique d’analyse**

Deux éléments primordiaux à l’établissement d’une stratégie analytique:

1. La validation de la méthode analytique;

2. La qualification /étalonnage des équipements.

**I. VALIDATION**

**Définition**

**Selon les BPF**

***« Validation*** *Programme documenté qui apporte un haut degré d'assurance qu'un procédé spécifique, une méthode ou un système, fournira de manière régulière un résultat conforme à des critères d'acceptation prédéterminés. »*

Cela veut dire que si on répète le même procédé avec les mêmes conditions, forcément on aura toujours le même résultat à la fin.

**Domaine d’application de la validation**

La validation s’applique aux:

1. Procédé de production (fabrication / conditionnement);

2. Procédé de nettoyage (équipements et locaux);

3. Méthode d’analyse.

**Validation des méthodes d’analyses**

***Selon BPF***

***« 6.15.*** *Les méthodes d'analyse doivent être validées. Un laboratoire ayant recours à une méthode d'analyse et n'ayant pas procédé à la validation initiale est tenu de vérifier le caractère approprié de la méthode d'analyse. Toutes les opérations de contrôle décrites dans l’autorisation de mise sur le marché ou le dossier technique doivent être réalisées conformément aux méthodes approuvées. »*

*« 12.80 Les méthodes analytiques doivent être validées à moins que la méthode utilisée ne soit incluse dans la Pharmacopée appropriée ou dans un autre standard de référence reconnu. La pertinence de toutes les méthodes d'analyse utilisées doit néanmoins être vérifiée dans les conditions réelles d’utilisation et être documentée.*

*12.81 Les méthodes doivent être validées en prenant en compte les critères inclus dans les guides ICH sur la validation des méthodes analytiques. Le degré de la validation analytique réalisée doit refléter le but de l'analyse et l'étape du procédé de production de la substance active.*

*12.82 La qualification appropriée des appareils d'analyse doit être prise en compte avant de débuter la validation des méthodes analytiques.*

*12.83 Les enregistrements complets de toute modification d'une méthode analytique validée doivent être conservés. De tels enregistrements doivent inclure la raison de la modification et les données appropriées pour vérifier que la modification donne des résultats aussi précis et fiables que la méthode établie. »*

**Documentation de la validation**

 En se basant sur les principes d’assurance qualité, il est impératif d’avoir une documentation *approuvée* pour *exécuter* et *prouver* une validation.

Deux documents sont nécessaires pour cela:

**1. Protocole de validation**: pour exécuter la validation. Il définit tous les aspects de la validation (méthode, équipements, paramètre à contrôler, critères d’acceptation, procédure en cas de déviation …)

**2. Rapport de validation**: pour prouver la validation. Il reporte tous les résultats, les déviations et la conclusion (validé/non validé)

**Prérequis à la validation**

 Proposition d’une méthode d’analyse à valider;

 Expertise de l’équipe (analytique/statistique/assurance qualité);

 Qualification des équipements;

 Références reconnues (ICH/Ph. Eur. …).

**Types de procédures analytiques à valider**

 Dosage du principe actif;

 Identification (Principe actif, excipient ou impuretés );

 Dosage des impuretés et leurs limites;

 Dissolution des produits finis.

**Paramètres de la validation**

Les caractéristiques de validation types qui doivent être prises en compte sont répertoriées ci-dessous:

1. Exactitude;

2. Précision:

* Répétabilité
* Précision intermédiaire (dans le même LCQ)
* Reproductibilité (entre différents LCQ)

3. Spécificité;

4. Limite de Détection;

5. Limite de Quantification;

6. Linéarité;

7. Intervalle;

8. Robustesse.

**Spécificité**

 La spécificité est la capacité d'évaluer sans équivoque l'analyte en présence de composants susceptibles d'être dans le mélange. En règle générale, il peut s'agir d'impuretés, de produits de dégradation, d'une matrice, etc.

 Le manque de spécificité d'une procédure analytique individuelle peut être compensé par d'autres procédures analytiques à l'appui.

 Elle est réalisée en comparant deux solutions (l’une avec l’analyte recherché et l’autre non) ceci dans le cas de la méthode d’identification. Par contre pour le cas de la méthode de dosage, il faudra comparer la résolution entre le pic de l’analyte recherché et le pic du composant le plus proche)

**Cette définition a les implications suivantes:**

**1. Identification:** pour garantir l'identité d'un analyte.

**2. Dosage des impuretés:** pour garantir que toutes les procédures analytiques effectuées permettent une évaluation précise de la teneur en impuretés, c'est-à-dire test de substances apparentées, métaux lourds, teneur en solvants résiduels, etc.

**3. Dosage du principe actif/excipient:** pour fournir un résultat exact qui permet une évaluation précise sur le contenu ou la teneur de l'analyte dans un échantillon.

**Exactitude**

 L’exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée en tant que valeur vraie conventionnelle ou valeur de référence acceptée et la valeur trouvée.

 C'est ce qu'on appelle parfois la justesse.

Ce paramètre est réalisé en comparant les résultats théoriques d’une référence avec les résultats obtenus. Par exemple il faudra préparer une référence à 1mg/ml et faire le contrôle de cette référence sur plusieurs essais (nous obtiendrons par exp: 1,01 mg/ml – 1,1mg/ml – 0,98mg/ml …

Il faudra juger de l’exactitude de ces valeurs en utilisant les statistiques (Coefficient de variation)

**Précision**

 La précision d'une procédure analytique exprime la proximité entre une série de mesures obtenues à partir d'un échantillonnage multiple du même échantillon homogène dans les conditions prescrites. La précision peut être envisagée à trois niveaux: *répétabilité*, *précision intermédiaire* et *reproductibilité*.

 La précision d'une procédure analytique s'exprime généralement par la variance, l'écart type ou le coefficient de variation d'une série de mesures.

** 1. Répétabilité**

La répétabilité exprime la précision dans les mêmes conditions de fonctionnement sur un court intervalle de temps. La répétabilité est également appelée précision intra-essai.

Elle est réalisée en répétant la même analyse plusieurs fois (6 fois)à la même concentration de travail et en étudiant les résultats.

Elle peut aussi parfois être réalisée en choisissant trois concentration et en répétant trois fois à chaque concentration. (cela fera en tout 9 analyses)

** 2. Précision intermédiaire**

La précision intermédiaire exprime les variations intra-laboratoires: différents jours, différents analystes, différents équipements, etc.

** 3. Reproductibilité**

La reproductibilité exprime la précision entre laboratoires (études collaboratives, généralement appliquées à la normalisation de la méthodologie).

**Limite de détection**

** La limite de détection d'une procédure analytique individuelle** est la

quantité la plus faible d'analyte dans un échantillon qui peut être détectée mais pas nécessairement quantifiée en tant que valeur exacte. Limite de quantification

** La limite de quantification d'une procédure analytique individuelle** est la plus faible quantité d'analyte dans un échantillon qui peut être déterminée quantitativement avec une précision et une exactitude appropriées. La limite de quantification est un paramètre des dosages quantitatifs pour de faibles niveaux de composés dans les matrices d'échantillons et est utilisée en particulier pour la détermination des impuretés et / ou des produits de dégradation.

**Linéarité**

 La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité (dans une plage donnée) à obtenir des résultats de test directement proportionnels à la concentration (quantité) d'analyte dans l'échantillon.

 Elle est réalisée en faisant plusieurs dilutions de la solution à partir de la concentration de travail (généralement de 50% à 120%). La linéarité est conclue à partir du facteur de linéarité de la droite.

r: facteur de linéarité (coefficient de linéarité) « r » doit être proche de 1

**Aire du pic**

**** **Concentration**

**Intervalle *(Range)***

 L’intervalle d'une procédure analytique est l'intervalle entre la concentration supérieure et inférieure d'analyte dans l'échantillon pour laquelle il a été démontré que la procédure analytique a un niveau approprié de précision, d'exactitude et de linéarité.

 Il faut choisir et tester une valeur minimale ainsi qu’une valeur maximale pour lesquelles la procédure analytique garde son exactitude, sa précision et sa linéarité.

**Robustesse**

 La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par de petites variations délibérées des paramètres de la méthode et fournit une indication de sa fiabilité pendant une utilisation normale.

 Elle est réalisée en faisant des petites variations dans les conditions opératoires telles que le pH, la température, débit … . Il ne faut pas que le résultat soit influencé par ces petites variations.

**II. QUALIFICATION**

**Introduction**

 Aucun résultat émis par un analyste après exécution d’une méthode d’analyse ne pourra être exploité et pris en considération si les équipements utilisés lors de l’analyse ne sont pas *qualifiés et/ou étalonnés*

**Définition**

***Selon les BPF***

« ***Qualification***

*Action de prouver et de documenter qu'un équipement ou ses systèmes auxiliaires sont installés convenablement, travaillent correctement et conduisent réellement aux résultats attendus. La qualification fait partie de la validation, mais les étapes de qualification à elles seules ne constituent pas une validation de procédé. »*

**Types de qualification**

***Selon les BPF***

***« Qualification***

*12.30 Avant de débuter les opérations de validation d'un procédé, une qualification appropriée des équipements critiques et des systèmes auxiliaires doit être réalisée. La qualification est habituellement conduite en réalisant les opérations suivantes, de manière individuelle ou combinée :*

***− La qualification de conception (QC) :*** *preuve documentée que la conception projetée des locaux, des équipements ou des systèmes, est bien adaptée à l’utilisation prévue ;*

***− La qualification d‘installation (QI) :*** *preuve documentée que les équipements ou les systèmes, tels qu'installés ou modifiés, sont conformes à la conception initialement approuvée*

*et / ou aux exigences des utilisateurs ;*

***− La qualification opérationnelle (QO) :*** *preuve documentée que les équipements ou les systèmes, tels qu'installés ou modifiés, fonctionnent comme prévu à l'intérieur des limites opératoires préétablies ;*

***− La qualification de performance (QP) :*** *preuve documentée que les équipements et les systèmes auxiliaires, une fois raccordés ensemble peuvent fonctionner de manière efficace et reproductible, sur la base de la méthode opératoire et des spécifications approuvées.*

**Etalonnage**

 L’étalonnage est la constatation et la documentation de l’écart d’un appareil de mesure par comparaison avec un autre appareil traçable d’une précision plus élevée à des conditions définies. Cet appareil est désigné comme « étalon ».

** Selon les BPF**

*«* ***Etalonnage*** *Démonstration qu'un instrument ou qu'un appareil particulier fournit des résultats à l'intérieur de limites spécifiées par comparaison avec ceux fournis par une référence ou un standard de référence traçable sur une gamme de mesures appropriée. »*

***Selon les BPF***

*«* ***5.3. Étalonnage***

*5.30 Les appareils de contrôle, de pesée, de mesure, de surveillance et de test, qui sont critiques pour assurer la qualité des intermédiaires et des substances actives, doivent être étalonnés conformément à des procédures écrites et à un planning établi.*

*5.31 Les étalonnages des appareils doivent être réalisés en utilisant des standards de référence raccordés à des standards certifiés, s'ils existent.*

*5.32 Les enregistrements de ces étalonnages doivent être conservés.*

*5.33 Le statut d’étalonnage des équipements critiques doit être connu et vérifiable.*

*5.34 Les instruments non conformes à leurs critères d'étalonnage ne doivent pas être utilisés.*

*5.35 Les écarts constatés aux critères d’étalonnage approuvés sur des instruments critiques doivent faire l’objet d’une enquête, afin de déterminer s'ils ont pu avoir un impact sur la qualité des intermédiaires ou des substances actives fabriqués en utilisant ces instruments depuis leur dernier étalonnage conforme. »*

**Ajustage – Incertitude**

** L’ajustage** est le réglage d’une valeur de mesure pour que l’écart par rapport à la valeur correcte soit le plus petit possible. L’ajustage exige une intervention sur l'appareil de mesure.

** L’incertitude** est la variabilité des valeurs obtenues dans un mesurage traduit ce qu'on appelle l'incertitude de mesure

**Etalon - Traçabilité**

** Étalon :** mesure matérialisée, appareil de mesure, matière de référence ou équipement de mesure ayant pour but de définir, matérialiser, conserver ou reproduire une unité ou une ou plusieurs valeurs de grandeur. En quelque sorte, l’étalon c’est LA REFERENCE avec laquelle une comparaison est possible.

** Traçabilité :** caractéristique d’un résultat de mesure ou de la valeur d’un étalon de se référer aux étalons appropriés, en général aux étalons nationaux ou internationaux, grâce à une chaîne ininterrompue de mesures comparatives avec des incertitudes de mesure indiquées.

C’est-à-dire c’est la CAPACITÉ À PROUVER que la valeur de l’étalon est la valeur de référence. Cette dernière est décidée par des organismes internationaux reconnues et toutes les autres valeurs sont reliées à cette valeur de référence.

**Fréquence de qualification/étalonnage**

Les équipements/instruments de contrôle requis pour les mesures doivent être qualifiés/étalonnés à des intervalles réguliers pour obtenir durablement des mesures correctes et pouvoir se fier à eux. La durée de cet intervalle peut être déterminée de manière individuelle par l’utilisateur ou le prestataire qui exécute le protocole et dépend entre autres des :

• Recommandations des laboratoires de qualification/étalonnage (généralement une fois par an);

• Indications du fabricant de l’équipement/instrument;

• Incertitudes de mesure exigées ;

• Définitions des normes et directives;

• Conditions d’utilisation;

• Fréquence d’utilisation.

La durée de qualification/étalonnage d’une année est le plus couramment admise.

**Qualification VS Etalonnage**

 La qualification concerne plus les équipements et système;

 L’étalonnage concerne les instruments de mesure.

**Exigences de la qualification/Etalonnage**

 Protocole approuvé détaillant tous les tests à effectuer et leur critères d’acceptation;

 Références des tests;

 Rapport/certificat (avec la conclusion et les références des étalons utilisés)

 Qualification de la personne qui rédige le protocole (attestation de formation ou diplôme dans la filière);

 Qualification de la personne qui exécute les tests (attestation de formation ou diplôme dans la filière);

 Identification de l’équipement/ instruments testé avec une étiquette mentionnant: la personne ayant exécutée les tests et sa signature, la date d’exécution, la date de prochaine exécution, la conclusion (conforme/non conforme) ainsi que les références de l’équipement/instrument.

**Quand est-ce que la qualification/étalonnage n’est plus valide?**

 Dépassement de la date apposée sur l’étiquette collée sur l‘appareil;

 Panne de l’appareil jusqu’à sa réparation;

 Si la réparation nécessite un changement de pièce ou une modification, elle peut impactée la qualification/étalonnage et cela nécessitera une nouvelle qualification complète ou partielle;

 Pour la qualification, elle se fait dans un emplacement précis, si l’équipement est déplacé donc la qualification devra être refaite (surtout pour les balances et chaines de chromatographies).

**Métrologie**

 La métrologie est la science de la mesure. Elle définit les principes et les méthodes permettant de garantir et maintenir la confiance envers les mesures résultant des processus de mesure. Il s'agit d'une science transversale qui s'applique dans tous les domaines où des mesures quantitatives sont effectuées.

 La métrologie participe étroitement à l’exécution des qualifications et étalonnages au niveau d’un laboratoire de contrôle qualité. Elle sert de base de référence.

**Buts analytiques dans le domaine pharmaceutique**

Les deux aspects de question  que l’on peut se poser en envisageant cet aspect particulier de l’étude des molécules utilisées en thérapeutique, sont :

* Lors de la recherche, ou plus précisément de la mise au point d’une molécule destinée à la thérapeutique, les techniques d’analyse auront pour rôle de vérifier la structure de cette molécule et d’établir ses propriétés physiques, chimique, biologique…
* Dans un deuxième temps, lorsque la molécule sera réellement utilisée en thérapeutique, c’est un autre aspect de la question qui devra être envisagé. Il sera en effet nécessaire de vérifier :
* que dans un médicament déterminé, il y a bien la substance annoncée (analyse qualitative, réactions d’identification les plus sélective possible),
* que cette substance est bien pure et non souillée par des intermédiaires de synthèse ou des produits de dégradation (vérification de la pureté).
* Il faudra enfin s’assurer qu’elle est bien présente en quantité conforme à celle annoncée

Les réactions permettant ces contrôles lorsqu’on s’adresse au produit pur, c'est-à-dire à la matière première brute, non mise en forme, ne seront pas nécessairement valables dans le médicament terminé (produit fini). En effet, des questions de limites de détection imposeront quelquefois des micro-méthodes. D’autre part, l’association avec d’autre molécules actives ou la présence d’un excipient donné excluront peut être l’emploi de certaines techniques insuffisamment spécifiques.

L’analyse des médicaments n’est donc pas toujours un problème aisé. Elle fait appel à un très large éventail de techniques. C’est pourquoi nous nous proposons d’envisager, sans toutefois être absolument exhaustifs, les principales méthodes et techniques d’analyse qui sont utiles à la pharmacie chimique, en citant pour chaque méthode les exemples d’utilisation les plus démonstratifs.

***Démarche analytique pour l’identification d’une substance pharmaceutique*** (analyse organoleptique, constantes physico-chimique (températures de changement d’état physique (point de fusion/ ébullition…), solubilité, pouvoir rotatoire, indices chimiques, indice de réfraction…..) ;

Des essais sont effectués, par des méthodes *spécifiques, simples et rapides* sur les contenus des divers emballages d’un même lot réceptionné dont le but est de s’assurer qu’il s’agit bien de la substance annoncée dans l’étiquète.

**NB :** Ces méthodes ne peuvent garantir la pureté d’une substance

***Analyse organoleptique :***

L’aspect, la couleur, l’odeur, la saveur, la vérification de la solubilité (substances très solubles, solubles, peu solubles et insolubles),…

Il permet une reconnaissance immédiate de la drogue et peut servir entre autre à vérifier son degré de pureté selon la présence ou non d’éléments étrangers, de moisissures et de détecter d’éventuelles altérations ou falsifications.

Ces caractères sont les premiers à considérer. Ils sont toujours mentionnés dans les monographies de la pharmacopée.

1. ***L'aspect*** L’analyse porte sur la limpidité et la fluidité des liquides, l'homogénéité des poudres et des produits pâteux, la forme et la dimension des cristaux solides.
2. ***La couleur*** Un changement de couleur peut signaler une altération de la drogue liée à de mauvaises conditions de conservation ou à une péremption. Parmi les sels ferreux, souvent verts (sulfate ou chlorure) peuvent trouver d’autres couleurs : le fumarate est brun et l’oxalate jaune.
3. ***L'odeur*** Elle est souvent caractéristique pour les préparations d'origine naturelle. Une odeur anormale permet de déceler une souillure ou une altération. est concluante dans certains cas, mais si certaines substances peuvent être senties sans précautions particulières (huiles essentielles, acétone…) d’autres doivent l’être avec plus de précautions (acide acétique, ammoniaque, formaldéhyde…).
4. ***La saveur*** Certaines drogues sont caractérisées immédiatement du fait de leur saveur très amère telle que la quinine. Cet essai doit être pratiqué avec discernement surtout dans le cas de produits toxiques, à goût très prononcé et pour les réceptions en série où la langue finit par s'accoutumer à la saveur.N’est plus mentionnée dans les textes officiels (pharmacopée) pour des raisons de responsabilité et de risques éventuels par un opérateur inattentif. **Toutefois, si elle est utilisée avec prudence, elle permet une indication intéressante.**

**Ex :** un laboratoire a été délivré au lieu du glucose une poudre blanche qui était du fluorure de sodium (substance toxique de saveur salée).

**ELABORATION DES SPECIFICATIONS ANALYTIQUES (ORGANOLEPTIQUE, PHYSICO-CHIMIQUE ET PHYTOCHIMIQUE) D’UN PHYTOMEDICAMENT ANTIPALUTIQUE : « DIE KOUADIO »**

***Constantes physico-chimique***

1. ***Températures de changement d’état physique***

* **Le point de fusion: (**pour les poudres, impures=changement du pt de F)) le point de fusion est une caractéristique de chaque composé dont la détermination permet de vérifier l’absence de substances étrangères (la présence des impuretés permet la diminution du point de fusion). Il est déterminé par le banc de koeffler qui présente un gradient de température de 50°C à 265°C. Le Pf est déterminé en étalonnant l’appareil à l’aide de substances dont le Pf est le plus proche de celui du produit à analyser.

**Banc de Koflerpour la détermination du point de fusion**

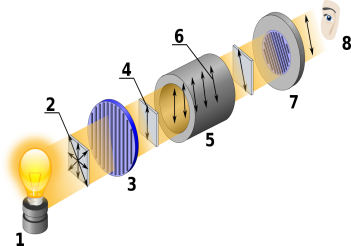
**Appareil à point de fusion affichage digital**

<https://www.google.com/search?q=banc+de+kofler+tube&source=lmns&tbm=vid&bih=600&biw=1366&prmd=ivsmnbtz&rlz=1C1CHBD_frDZ839DZ839&hl=fr&sa=X&ved=2ahUKEwidyOaGxPiEAxUqU6QEHeTxDu0Q0pQJKAN6BAgBEAg#fpstate=ive&vld=cid:a0602432,vid:5UKnz8klOJ4,st:0>

* **Le point d’ébullition :** à l’aide d’un appareil décrit dans la pharmacopée.

1. ***Solubilité :*** est la capacité d'une substance, appelée soluté, à se dissoudre dans une autre substance, appelée solvant, pour former un mélange homogène appelé solution.
2. ***le pouvoir rotatoire :*** c’est la propriété de certaines substances (acides aminés, sucres, composés à carbone asymétrique…) de dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée.il est déterminé par un polarimètre.

<https://www.google.com/search?q=polarim%C3%A8tr+d%E2%80%99un+appareil&sca_esv=f2e7f9d141197aa8&bih=600&biw=1366&rlz=1C1CHBD_frDZ839DZ839&hl=fr&tbm=vid&ei=zWL2ZdDbJdn_kdUPvOC9iAs&ved=0ahUKEwiQ9vforPqEAxXZf6QEHTxwD7EQ4dUDCA0&uact=5&oq=polarim%C3%A8tr+d%E2%80%99un+appareil&gs_lp=Eg1nd3Mtd2l6LXZpZGVvIhtwb2xhcmltw6h0ciBk4oCZdW4gYXBwYXJlaWwyCBAAGIAEGKIEMggQABiABBiiBDIIEAAYgAQYogRIgQ1QsANY8QVwAHgAkAEAmAG1AaAB3wSqAQMwLjS4AQPIAQD4AQGYAgOgAvwDwgIIEAAYiQUYogSYAwCIBgGSBwMwLjOgB7MJ&sclient=gws-wiz-video#fpstate=ive&vld=cid:fb7a8ed3,vid:pjaXapqESq0,st:0>

1. ***l’indice de réfraction*** *:* (certaines huiles, liquides purs**)** l’indice de réfraction décrit la vitesse à laquelle un faisceau lumineux traverse un milieu. Est une [grandeur sans dimension](https://fr.wikipedia.org/wiki/Grandeur_sans_dimension)  mesuré à l’aide d’un réfractomètre afin de déterminer son identité, sa pureté ou sa concentration.



***5. les indices chimiques :*** une mesure pour évaluer la qualité des corps gras (l’indice d’acide, l’indice de saponification, de peroxyde).

***6. la densité relative :*** La masse volumique d'un produit pharmaceutique liquide, pâteux (mastic, adhésif, peinture, etc.) ou solide (poudre, par exemple) , mesurée grâce à un pycnomètre à solide ou à liquide.

**Par exemple :**

Les sels de mercure ou de baryum sont très lourds, alors que le carbonate basique de Mg est particulièrement léger. Mesurer a l’aide d’un pycnomètre à liquide ou à solide

Démarche analytique pour le dosage d’une substance pharmaceutique (substances pures, mélanges complexes…) ;

**5.1 Les méthodes de dosage des produits pharmaceutiques :**

Les critères analytiques fondamentaux de dosage des substances médicamenteuses dans les trois milieux qui nous intéressent sont :

**- Pour les matières premières :**

 Le point fondamental est la précision : une pureté doit pouvoir être déterminée à 0,1% prés.

 La justesse de la méthode est en fait secondaire car elle peut être compensée par un facteur de correction que l’on introduit dans le calcul,

 La spécificité compensée par des techniques poussées d’identification et de recherche d’impureté.

- **Pour les formes pharmaceutiques :**

 Le titre du ou des PA doit pouvoir être assuré à ±5% selon la législation européenne en vigueur, si non, il conviendra de justifier un dépassement de ces normes.

 La spécificité

 La sensibilité

**- Pour les milieux biologiques :**

 Les deux critères essentiels sont la spécificité et la précision de la méthode étant acceptable jusqu’à 10% environ.

**5.2 Matière première**

 Dosage des éléments minéraux :

**Cations :**

**a- Les alcalins : Na, K, Li, Ce, Fr, Rb (colonne IA)**

Ce sont les métaux qui, combinés à l’oxygène, forment des alcalis.

Leur potentiel d’ionisation relativement bas permet de les doser facilement par spectrophotométrie d’émission atomique (SAE) encore appelée photométrie de flamme. C’est la méthode la plus simple et la plus spécifique, elle est basée sur l’utilisation de la raie de résonnance de l’élément à doser.

**b- Les alcalino-terreux : Ba, Mg, Ca, Sr, Rd, (colonne IIA)**

Leur potentiels d’ionisation plus élevés que les alcalins ne permet pas d’utiliser pratiquement le phénomène d’émission. Analytiquement, la méthode de choix est l’absorption atomique (SAA) en raison de sa précision et de sa spécificité.Des méthodes chimiques telles que la complexométrie sont aussi utilisées, ces méthodes sont aussi précises que la SAA mais beaucoup moins spécifique et sensibles, leurs mise en oeuvre est en générales plus simple, elle exige cependant une bonne maitrise de l’appréciation des virages. Le dosage peut être direct ou en retour.

**c- Les métaux de transition (colonne IIIA à IIB) :**

Il correspondent dans le domaine pharmaceutique aux oligoélément et à certains minéraux ( Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Cd, Sn, Bi, Pb), divalents ou trivalents pour la plupart sauf Ag ; leur détermination se fait sélectivement par absorption atomique (SAA). En effet, leur potentiel d’ionisation élevé ne permet pas d’exploiter de façon satisfaisante leurs caractéristiques d’émission. Rappelons encore que la SAA présente l’avantage d’une parfaite identification lors du dosage. Dans une MP le dosage est aisé lorsqu’il s’agit du cation correspondant à doser, est la précision est de l’ordre de pour cent. Il ne faut pas oublier que la SAA dose l’élément et non pas l’état d’ionisation possible de l’élément (Fe2+ et Fe3+ ne peuvent pas distingués). Elle permet uniquement une approche globale. Il faudra utiliser d’autres (polarographie, électrode spécifique) pour obtenir une information précise sur l’état de valence.

Une autre alternative pour les éléments de transition est la titrimétrie soit par formation de chélate ( (comlexe) soit par oxydoréductimétrie.

- **Formation de chélate** : l’agent complexant est souvent l’EDTA :

Le pH doit être particulièrement contrôlé car toute chélation s’accompagne de libération de proton (acidification), le milieu est donc tamponné. Cette méthode est facile, peu couteuse, mai la spécificité n’est pas absolue. Cependant, la maitrise du pH autorise des dosages spécifiques d’un nombre limité d’éléments en solution, mais jamais deux états deux etats d’oxydation d’un même élément (Hg2+ et Hg+). Enfin les prises d’essai sont importantes : 100mg environ.

- **L’oxydoréductimétrie :**

Basée sur l’existence d’une réaction chimique entre la forme réduite d’un couple oxydoréducteur de potentiel E01 et la forme oxydée d’un second oxydoréducteur de potentiel normal E02 avec E01<E01. L’oxydoréductimétrie peut être chimique (ci-dessus) ou électrochimique lorsque le potentiel oxydant ou réducteur est celui d’une électrode.

**Les anions :**

Dans les pharmacopée le dosage d’un sel minéral est soit le dosage du cation ( Ca2+ dans CaCl2) soit de l’anion ( Cl- dans NaCl), l’élément de charge opposée n’étant qu’identifier.

**- Les halogénures : ( F-,Cl-, Br-, I-) :** Pour le dosage de ces anions, on utilise comme techniques :

**1- Argentimétrie :**

***Argentimétrie direct :*** cl-, Br-, I- ont des produits de solubilité suffisamment faibles sous forme de sels d’argent SAgl=1,5.10-17, SAgCl=10-9,7, SAgBr=5.10-13 pour être doser par argentimétrie directe on utilisant les nitrate d’argent 0,1N comme réactif titrant et on utilisant une détection potentiométrique à l’aide d’une électrode d’argent.

-Technique de Mohr en milieu neutre pour les chlorures Cl-

-Technique de Charpentier-Vohlard en milieu acide

Les méthodes de Charpentier- Vohlard et Mohr permettent de doser en principe n’importe quel anion chlorure dans n’importe quel matière première. La simplicité de la méthode de Mohr en fait la méthode de choix alors qu’elle n’est pas toujours utilisable pour les formes pharmaceutiques (pH acide). Dans ce cas il faudra avoir recours à la technique de charpentier Volhard.

1,3) Les anions complexes :

On définira les anions complexes par la combinaison de deux éléments chargés négativement : SO42-, NO2-, NO3-, CN-, PO43-

Il est rare, en fait que ces anions soient dosés lors du contrôle d’une matière première. On préfère déterminer le cation correspondant (sodium, potassium) dont le dosage est souvent plus simple et plus précis

2) **Dosage des molécules organiques :**

Les substances organiques peuvent être définies comme des combinaisons moléculaires formées des atomes de C, H, N, S, O et éventuellement d’autres éléments. Il peut s’agir d’acides, de bases, de molécules sans pK, de sels.

Pour doser une molécule organique en tant que matière première, l’analyste doit sélectionner dans la molécule considérée un groupement fonctionnel susceptible d’être mis en jeu dans une méthode de dosage rapide, simple, très précise.

***2,1) Acides***

 L’acidimétrie en milieux aqueux : les acides organiques suffisamment forts pour être dosés directement ou en retour en milieu aqueux sont relativement peu nombreux en pharmacie.

 l’acidimétrie en milieu non aqueux : l’utilisation d’un solvant non aqueux permettant une meilleure dissolution du principe actif, Exemple Acétone, éthanol préalablement neutralisés. Dans ce cas le réactif titrant est une solution alcoolique ex : KOH alcoolique 0,5N

***2,2) Bases***

 Dosage en milieu aqueux : réservé aux bases fortes

 Dosage en milieu non aqueux : réservé aux bases faibles on peut citer comme exemple la méthode classique de Pifer et Wollish développée dans les années 1950 ; sa simplicité, sa rapidité, sa très grande précision l’on fait adopter de façon universelle et elle figure dans de très nombreuses pharmacopées.

Le principe de la méthode est le suivant : la basicité de la molécule à doser est exaltée par dissolution dans l’acide acétique ; ce dernier par solvatation va libérer un ion acétate qui va pouvoir être dosé par un acide fort comme HClO4 0,1N. Il s’agit d’un dosage indirect.

***2,3) Les molécules carbonylées :*** Aldéhydes et cétones peuvent réagir de façon quantitative avec l’hydroxylamine

R – C = O + H2NOH R – C = N - OH + H2O

C’est une technique volumétrique simple applicable à de nombreux composés carbonylés ne possédant pas d’autres fonctions organiques caractéristiques.

***2,4) Les polyols simples :*** sucres, dérivés du glycérol etc………..

La méthode de choix c’est la périodimétrie : elle est précise, simple, reproductible, elle figure dans de très nombreuses monographies de la pharmacopée.

Lorsque la périodimétrie n’est pas utilisable, il reste deux solutions :

- Soit exploiter le pouvoir réducteur d’un aldose ou d’un cétose (réduction de la liqueur de Fehling)

- Soit déterminer le titre par polarimétrie pour les sucres possédant un pouvoir rotatoire spécifique.

2,5) Les molécules oxydoréductibles :

Manque de spécificité des techniques d’oxydoréduction. Ce type de dosage est pratiqué que s’il n’ya pas d’autres méthodes disponibles.

***2,6) Molécules comportant des groupements fonctionnels basiques et acides.***

Le meilleur exemple est l’acide aminé

 Dosage de la fonction acide : c’est la méthode de Sorensen par formol-titration

 Dosage de la fonction basique : dosage en milieu non aqueux

***2,7) Dosage des sels de molécules organiques :***

Beaucoup de médicaments organiques sont salifiés pour faciliter la dissolution du principe actif en milieu aqueux

 Dosage des sels de **bases** organiques : les principaux sels de bases utilisées en pharmacie sont :

Les chlorhydrates, les bromhydrates, les sulfates, les mésylates

Le dosage se fait par protométrie en milieu non aqueux

 Dosage des sels **d’acides** organiques : ex acétate de Zinc, gluconate de sodium dosage du cation correspondant par compléxométrie ou par absorption atomique S.A.A pour cation ( bi ou trivalent), quand le cation est monovalent il peut être dosé par photométrie de flamme.

On peut aussi doser l’anion par protométrie en milieu acétique par l’acide perchlorique 0,1N

**3) Les formes pharmaceutiques** : Dosage des minéraux dans les médicaments

***1) Cations :*** les méthodes évoquées pour les matières premières (photométrie de flamme, absorption atomique, colorimétrie, oxydoréductimétrie…) sont globalement applicables aux formes pharmaceutiques

***1,1) Association minérales strictes, ex oligoéléments et certains solutés massifs***

Le dosage se fait par :

 Compléxonométrie : lorsque les circonstances le permettent (forte concentrations, un seul cation à doser) les techniques titrimétriques deviennent intéressantes en raison de leur simplicité et de leur faible coût.

 Dosage spectrophotométrique : Formation de complexes colorés

 Émission ou absorption atomique : lorsque l’analyste doit résoudre le problème de dosage multiéléments dans une préparation pharmaceutique, il se tournera vers une méthode physique d’émission (photométrie de flamme) pour les alcalins et d’absorption atomique (S.A.A) pour les autres éléments.

 L’émission atomique par plasma induit ICP = (inductive coupled plasma)

***1,2) Association avec des molécules organiques*** = ces associations posent moins de problèmes qu’un mélange complexe strictement poly ionique.

***2) Anions***

Les méthodes volumétriques sont très pratiquées à partir du moment où une seule espèce anionique est en cause.

 Les électrodes spécifiques : peuvent être utiles (F-, CN-, SCN-, NO2-, NO3-) mais nécessite un entretien très rigoureux

 Les méthodes d’oxydoréduction sont d’un emploi limité du fait de leur manque de spécificité. Sont utilisées dans les dosages classiques des solutés d’hypochlorite (Dakin, l’eau de javel)

 La chromatographique ionique : tous les anions ainsi que les anions complexes peuvent dans certaines conditions être dosés simultanément par cette méthode

La colonne utilisée est une résine échangeuse d’anions

***3) Dosage des molécules organiques***

C’est le problème le plus couramment rencontré lors du contrôle du produit fini, la grande majorité des médicaments relevant de la chimie organique.

L’analyste est appelé à développer une méthode parfaitement spécifique du produit à doser toutes les interférences avec d’autres principe actifs associés, excipients doivent être évitées, ceci n’est pas toujours réalisable et seules les méthodes chromatographiques permettent d’atteindre ce but.

***3,1) Les médicaments acides = les techniques qui sont utilisées sont :***

 La protométrie ne peut être utilisée qu’en milieu neutre ou quand le PH n’est pas ajusté pour une raison de stabilité des principes actifs.

 Absorptiométrie dans l’UV.

 La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G)

 La chromatographie en phase liquide (H.P.L.C)

***3,2) Les médicaments basiques =***

Ce groupe constitue la majorité des médicaments (sous forme de base et de sel de base).

Les médicaments basiques (et leur sels) peuvent être titrés plus commodément par trois groupes de méthodes :

 Volumétrie en phase hétérogène avec appariement de paire d’ions

 Absorptiométrie directe dans l’UV

 Méthode chromatographique : C.P.G ou plus souvent H.P.L.C

***3,3) Les polyols (sucre)***

Ils peuvent être dosés :

 Par voies enzymatiques (glucose)

 Par périodimétrie

 Par H.P.L.C- réfractométrie et polarimétrie

4) **Liquide biologique**

Le dosage des médicaments dans les milieux biologiques est le plus complexe, puisqu’il faut séparer le médicament à doser des substances endogènes susceptibles d’interférer et éventuellement de métabolites.

Les principaux facteurs à prendre en compte sont bien sûr la spécificité et la sensibilité de la méthode.

Les méthodes utilisées à l’heure actuelle pour le dosage des médicaments sont de deux types :

 Méthodes immunologiques : immunoenzymologie et immunofluorescence

 Méthodes chromatographiques : La C.C.M se prête difficilement à des réactions de quantification, mais possible par HPTLC (CCM à haute performance) .

La C.P.G et l’H.P.L.C s’appliquent au dosage de très nombreux médicaments ainsi qu’à leurs métabolites. La sélection entre C.P.G et H.P.L.C se fera en premier lieu en fonction des caractéristiques physicochimique de la molécule à doser.

**Dosage des médicaments du prélèvement au résultat (il faux ajouter partir de et article)**

**BIBILIOGRAPHIE**

1) Analyse pratique du médicament D. Pradeau

2) Chimie analytique et équilibres ionique Jean-Louis Burgot

3) Méthodes de séparation (tome 2) M. Hamon

4) Chimie des solutions (tome 1) M.Hamon

5) Pharmacopée Européenne 6ème Edition

Démarche analytique pour la recherche d’impuretés (principaux types d’impuretés, matières premières, produit fini).

Après l’identification de la MP, il est nécessaire de s’assurer que celle-ci n’est pas contaminée résidus de synthèse en cas de purification insuffisante, produits de dégradation en cas de mauvais conservation…).

Il existe de nombreux types d’impuretés. Celles-ci peuvent être classées en 3 grandes catégories :

* Impuretés organiques
* Impuretés inorganiques
* Solvants résiduels.

En plus de ces trois grandes catégories d’impuretés, nous aborderons le cas des produits frauduleux, leur présence étant de plus en plus démasquée ou suspectée.

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 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).

***Les solvants*** sont des liquides organiques ou inorganiques utilisés comme véhicule dans la préparation de solutions ou de suspensions utilisés dans la synthèse d’une substance médicamenteuse.

Les solvants résiduels sont dans la plupart des cas des liquides organiques ou par fois inorganiques utilisés généralement dans la dernière étape de purification ou recristallisation de la substance active.

Selon leur toxicité on peut les classé en 3 classes :

### Classe 1 : Solvants à éviter

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

Exemple : **Benzène**.

### Classe 2 : 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. Exemple : **Acétonitrile**.

### Classe 3 : Solvants à faible potentiel toxique

Solvants à faible potentiel toxique pour l’homme ; aucune limite relative à l’exposition n’est exigée. Exemple : **Acide acétique**.

**En plus de ces trois grandes catégories d’impuretés, nous aborderons le cas des produits frauduleux, leur présence étant de plus en plus démasquée ou suspectée.**

***Cas des fraudes :***

Il existe des impuretés extrêmement difficiles à détecter car elles sont issues de «

l’innovation » des contre façonniers [39]. Certains fournisseurs peuvent avoir recours à des subterfuges afin d’obtenir un produit moins coûteux à la production, ou pour palier une pénurie d’un des constituants du produit.

Un produit contenant une telle « impureté » ne peut être déclaré conforme. Cependant, ces fraudes sont difficilement détectables. Ces substituts, d’origine souvent inconnue,

Voire le tableau 1 dans l’annexe II P : III

## Origine des impuretés : [13]

### III.3.1 Pour un PA :

Les impuretés peuvent être de nature très variés et avoir un impact considérable sur le devenir du PA comme ***les impuretés organiques*** proviennent souvent du procédé de production Et /ou du stockage de la substance ,elles peuvent être volatile ou non et peuvent être identifiées, un résumé de toutes ces impuretés organique (réelles et théorique )doit être réalisé ,celui-ci s’appuie sur l’étude du procédés de production et de dégradation du PA mais aussi d’après les résultats obtenus lors de la phase de développement et des études de dégradation forcées , et ***les impuretés inorganiques*** sont issues de la production du PA et sont connue

### III.3.2 Pour un PF :

C’est le guide ICH Q3B (R2) qui traite des impuretés pour les produits finis, utilise le terme d’impureté de dégradation qui regroupe les produits de dégradation de la substance et/ou le système de conditionnement

**Notions de toxicité**

Ces impuretés, présentes dans les excipients aussi bien que dans les substances actives utilisées dans les médicaments, peuvent engendrer des conséquences plus ou moins graves et plus ou moins réversibles en terme de santé publique. Ces effets toxiques peuvent de plus s’exprimer aussi bien faiblement et de façon très localisée, que toucher un organe entier, voire l’organisme au complet, avec plus ou moins de virulence.

Cette toxicité est à prendre en compte de façon encore plus importante pour les médicaments destinés à être administrés uniquement à des patients dont l’organisme est déjà soumis à des stress ou des complications non physiologiques. Les effets toxiques peuvent donc être potentialisés du fait de cet état général déficient présenté par les patients

**B. Impuretés organiques**

Les impuretés organiques, autres que les solvants, sont principalement composées des « substances apparentées مواد ذات صلة», constituées par les précurseurs de synthèse (un [composé](https://fr.wikipedia.org/wiki/Compos%C3%A9_chimique) participant à une [réaction](https://fr.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9action_chimique) qui produit un ou plusieurs autres composés), les produits secondaires, les intermédiaires de synthèse ainsi que les produits de dégradation.

Il existe également une catégorie de molécules qui, selon les cas, peut être considérée soit comme faisant partie du produit de synthèse, soit comme une impureté : les isomères.

***Substances apparentées***

L’essai des « substances apparentées » est réalisé dans nombre de monographies afin de rechercher des éventuelles molécules organiques dérivées du produit synthétisé, ou potentiellement dangereuses.

L’essai des substances apparentées a donc pour objectif de contrôler la présence d’impuretés indésirables toxiques ou non.

Ainsi, pour exemple, le paracétamol peut se dégrader facilement en 4-aminophénol. Hors, selon la fiche de données de sécurité de celui-ci, disponible auprès des fournisseurs de matière première(22), le 4-aminophénol peut être très dangereux en cas de contact avec la peau, d’ingestion ou d’inhalation. Même si aucune précision sur les risques d’effets carcinogènes, tératogènes ou mutagènes n’est apportée par la fiche de sécurité, il est impératif de vérifier la non dégradation du paracétamol. D’autant plus que le 4-aminophénol possède également des propriétés néphrotoxiques(7).

***Isomères***

La présence d’un (ou plusieurs) carbone(s) asymétrique(s), formant ainsi un (des) centre(s) de chiralité, peut engendrer des propriétés différentes pour chaque isomère(17). Ceci peut entrainer aussi bien des propriétés thérapeutiques différentes, que des toxicités différentes. Dans certains cas, ces isomères peuvent cependant être utilisés en mélange racémique. C’est souvent le cas lorsque les propriétés sont extrêmement proches, ou lorsqu’aucun des isomères ne montre de toxicité excessive. Le coût de la séparation serait donc superflu. Cependant, pour certains isomères, l’un peut avoir un effet thérapeutique, tandis que l’autre est toxique.

La levodopa est un précurseur de la dopamine, utilisé dans le traitement de la maladie de Parkinson. Il possède un centre de chiralité qui permet la formation de 2 énantiomères. Seul l’énantiomère lévogyre (S)-(-) est conservé dans ce médicament. L’autre énantiomère, dextrogyre (R)-(+), est quant à lui toxique, et entraine des risques d’agranulocytose. Il ne doit donc pas être présent dans le médicament final, ou du moins en quantité très faible conformément aux limites tolérées.

**C. Impuretés inorganiques**

Les impuretés inorganiques font référence aux éléments tels que les catalyseurs chimiques de réaction, source fréquente de métaux lourds, chlorures, sulfates, etc…

La présence potentielle de ces éléments est presque systématiquement vérifiée car ils sont très couramment utilisés au cours des synthèses et représentent un danger pour la santé publique.

Les métaux lourds représentent une catégorie d’impuretés qu’il est absolument indispensable de rechercher afin de vérifier la conformité de la substance contrôlée. L’essai des métaux lourds permet de rechercher les éléments suivants(2) :………………………………………..

Parmi ceux-ci, le plomb, élément le plus fréquemment rencontré, est utilisé comme mode d’expression des résultats de l’essai : « ppm de plomb ».

Par exemple (18, 20), l’intoxication au plomb peut être extrêmement dangereuse que ce soit chez l’adulte ou chez la femme enceinte, ou allaitant son bébé. En effet, le plomb franchit sans difficulté la barrière placentaire et passe également dans le lait maternel. Chez l’enfant, ces effets peuvent être potentialisés car leurs organes sont en plein développement, et leur absorption intestinale est approximativement trois fois plus importante que chez l’adulte.

L’intoxication infantile au plomb s’appelle le saturnisme (8). C’est une maladie extrêmement grave, qui peut laisser des séquelles très handicapantes. Les effets de l’intoxication au plomb sont regroupés en annexe dans le tableau 6 (p.55).

**D. Solvants résiduels**

En cas d’utilisation de solvants de classe 1 ou 2 durant la dernière phase de synthèse d’un médicament, un essai de solvants résiduels doit être obligatoirement mis en place. C’est également le cas si un solvant est utilisé avant la dernière phase de synthèse, mais que son utilisation n’est pas suivie par une procédure validée d’élimination de ce solvant. Dans ces conditions, des traces de ces solvants peuvent subsister. L’essai « solvants résiduels » permet de vérifier les taux auxquels ces solvants sont présents.

Les solvants organiques (10, 11, 12, 13, 14, 15), 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 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 chaine de production pharmaceutique. *« Les solvants c’est pas fait pour se laver les mains »(9)*. Ils ont une action plus ou moins agressive sur la peau et les muqueuses, et peuvent entrainer des dermatoses parfois importantes. De plus, les solvants passent facilement la barrière cutanée du fait de leur lipophilie, ce qui peut entrainer 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

Dans les cas extrêmes, une exposition plus importante peut aboutir au coma profond, voire au décès.

Dans des cas de toxicité à long terme, le système nerveux périphérique peut également être atteint. Par exemple, le méthanol possède une toxicité ciblée sur le nerf optique, pouvant aller jusqu’à la cécité.

Les solvants sont également très toxiques pour le foie et le rein, ces deux organes étant chargés de l’élimination de toutes les substances néfastes pour l’organisme. Les solvants halogénés sont particulièrement actifs sur ces organes. Ils entrainent fréquemment des insuffisances rénales pouvant même aller jusqu’à des nécroses rénales et hépatiques en cas d’exposition importante.

Une composante anémiante 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.

Du fait de la capacité des solvants organiques à traverser toutes les membranes lipidiques, dont la barrière placentaire, les femmes enceintes doivent être particulièrement protégées afin que le développement foetal ne soit pas perturbé par ces solvants.

En plus des causes de toxicité immédiate, il peut être important de vérifier les taux de solvants résiduels à d’autres fins(1).

D’une part, ces solvants résiduels peuvent influer 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.

Enfin, si une certaine quantité de solvants résiduels est encore présente dans la formulation finale, on risque de constater une inappétence du patient pour le médicament, en raison de l’odeur ou du goût désagréable ainsi provoqué.

**E. Cas des fraudes**

Il existe des impuretés extrêmement difficiles à détecter car elles sont issues de « l’innovation » des contre-façonniers(19). Certains fournisseurs peuvent avoir recours à des subterfuges afin d’obtenir un produit moins coûteux à la production, ou pour palier une pénurie d’un des constituants du produit.

Un produit contenant une telle « impureté » ne peut être déclaré conforme. Cependant, ces fraudes sont difficilement détectables. Ces substituts, d’origine souvent inconnue, peuvent entrainer des conséquences néfastes pour la santé publique.

Un exemple de fraude dont les répercussions sur la santé publique se sont révélées désastreuses est le cas de l’héparine frauduleuse survenu entre novembre 2007 et août 2008. Cette affaire est à l’origine de la mort de 130 personnes environ (dont plus de 80 aux Etats-Unis).

En effet, pour faire face à la demande croissante d’héparine, certains sites chinois avaient utilisé de la chondroïtine persulfatée dans leurs héparines sodiques. Cette substance contaminante est retrouvée sur des produits fabriqués à partir de sources chinoises sur une partie de l’année 2007 (10 lots de produits finis et 2 lots de matières premières). Des impuretés naturelles ont également été mises en évidence, dont l’une est le dermatan sulfate, présent dans 35 lots de produits finis et dans 21 lots de matières premières, tous correspondant à une production d’origine chinoise.

Afin d’avoir un impact le plus faible possible sur la santé publique, toutes ces impuretés et ces produits plus ou moins dangereux doivent donc être maintenus aux taux les plus faibles possibles. A ces fins, la Pharmacopée Européenne a mis en place des monographies spécifiques visant à contrôler tous les aspects d’une substance, afin de pouvoir en affirmer sa qualité pour une utilisation ultérieure dans des produits à usage humain. Ces monographies mettent en place des essais de plus en plus exigeants, menés à l’aide de techniques de plus en plus précises, dans le but d’avoir une connaissance de plus en plus approfondie des matières contrôlées.

**Les méthodes analytique les plus utilisables :**

**CCM :** Un corps pur ne donne qu’une seule tache après révélation. Elle permet la mise en évidence d’impureté ou de produits de dégradation.

**Spectrophotométrie UV :**

 Si le produit et les impuretés absorbent dans l’UV, on observe une augmentation de l’absorption en présence des impuretés.

 Si seul le produit et non les impuretés, le coefficient d‘extinction spécifique augmente avec le degré des impuretés.

 Si le produit n’absorbe pas, les impuretés peuvent absorber, le tracé d’un spectre peut donc présenter un intérêt.

**Perte de masse par dessiccation :** cet essai permet de connaitre le degré d’hydratation et de mettre en évidence d’éventuels solvants volatils cristallisés avec le produit à analyser. C’est un critère important puisque la présence d’eau abaisse le titre de MP.

**Cendres sulfuriques :** cette recherche permet de mettre en évidence la quantité de matière minérale dans une substance organique.

**Essai limite des métaux lourds :** la pharmacopée décrit 5 procédés pour la recherche des métaux lourds correspondant à chaque type de MP en fonction de son état et destinés à libérer les métaux lourds retenus dans la MP.

**Recherche d’impuretés particulières :**certaines impuretés particulières à chaque MP peuvent être recherchées (Une impureté de fabrication, de dégradation).

**ELABORATION DES SPECIFICATIONS ANALYTIQUES (ORGANOLEPTIQUE, PHYSICO-CHIMIQUE ET PHYTOCHIMIQUE) D’UN PHYTOMEDICAMENT ANTIPALUTIQUE : « DIE KOUADIO »**