MÉTHODES PHARMACOPÉES

Support de la conférence

Chimie Analytique

Conférence

Dr. OUNAS

5e ANNÉEE – PHARMACIE – 2015/2016

INTRODUCTION

La qualité d'un produit pharmaceutique est assurée par le contrôle au cours de toute la chaine de production :

- Contrôle des matières premières (substance (s) active (s) et excipients).
- Contrôle *in-process* des produits semi-finis.
- Contrôle du produit fini.

Ces contrôles sont renseignés sous forme de fiches de spécifications dans les documents soumis aux autorités :

- ASMF : Active Substance Master File (pour la substance active).
- Dossier pharmaceutique du produit fini.

Une fiche de spécifications regroupe les différents contrôles à réaliser afin de statuer sur la conformité de la substance ou du produit pharmaceutique. On y distingue : une description du caractère, les tests d'identification, les essais et le dosage. Pour chaque analyse, les normes de conformité sont définies.

Les spécifications sont établies à partir de la monographie de la substance ou du produit dans le cas où c'est inscrit à une Pharmacopée. Le cas échéant, les spécifications sont établies par le fabricant (cas de matière première) ou le producteur (cas de produit fini) selon les directives du *guideline ICH Q6A* et les chapitres généraux de la Pharmacopée Européenne *Substances pour usage pharmaceutique* et ceux sous *Formes pharmaceutiques*.

PHARMACOPÉES

Les Pharmacopées sont des recueils réglementaires régulièrement mis à jour et destinés :

- Aux professionnels de santé utilisateurs de matières premières ou en charge de préparations pharmaceutiques.
- Aux laboratoires (publics et privés) chargés des contrôles de qualité et service d'évaluation des médicaments.

Les Pharmacopées définissent :

- Les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments (à usage humain ou vétérinaire).
- Les méthodes d'analyse à utiliser pour en assurer le contrôle.

Les Pharmacopées les plus utilisées :

- La Pharmacopée Européenne Ph. Eur. (matières premières).
- La Pharmacopée Britannique BP (matières premières et produits finis).
- La pharmacopée Américaine « USP » (matières premières et produits finis).

Les Pharmacopées sont constituées de plusieurs monographies.

MONOGRAPHIES

Une monographie est un ensemble de spécifications définissant des caractéristiques qualitatives et quantitatives des matières premières ou produits finis pharmaceutiques en vue d'assurer une qualité optimale.

On distingue :

- Les monographies générales décrivant de manière générale les contrôles à réaliser.
- Les monographies spécifiques décrivant les contrôles spécifiques à réaliser pour une substance ou un produit pharmaceutique donné (e).

Les monographies spécifiques sont constituées de différentes rubriques : DÉFINITION - CARACTÈRE – IDENTIFICATION – ESSAI – DOSAGE – IMPURETÉS … .

MÉTHODES PHARMACOPÉES DE CONTRÔLE DES MATIÈRES PREMIÈRES

IDENTIFICATION

Objectif : Confirmer l'identité de la substance.

Les tests doivent être suffisamment spécifiques pour permettre de distinguer les uns des autres les excipients ou les substances actives possédant des structures voisines.

MÉTHODES ANALYTIQUES UTILISÉES

Méthodes instrumentales :

- Analyse spectrométrique : Spectrométrie d'absorption infrarouge – Spectrométrie de résonnance magnétique nucléaire.

- Analyse chromatographique : Chromatographie en phase liquide – Chromatographie en phase gazeuse.

Autres méthodes :

- Constantes physiques : Point de fusion – Pouvoir rotatoire … .
- Réactions chimiques : Réaction de coloration ou de précipitation.
- Examen chromatographique : Chromatographie sur couche mince.

SÉRIES DE TESTS D'IDENTIFICATION

Les tests d'identification peuvent être groupés dans une seule série (Figure 1 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II) ou en deux séries (Figure 2 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II), on parle ainsi de première et seconde identifications.

La seconde identification n'est pas applicable aux fins de contrôle qualité dans les pharmacies produisant des médicaments soumis à autorisation (impliquant l'application de BPF).

La seconde identification peut être utilisée en remplacement à la première identification si l'on peut établir la traçabilité de la substance ou du médicament à un lot certifié conforme à l'ensemble des exigences de la monographie, et si cette traçabilité est documentée dans un certificat d'analyse.

SPECTROMÉTRIE D'ABSORPTION INFRAROUGE :

La spectrométrie d'absorption infrarouge (Figure 3 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I) est une méthode autosuffisante pour la vérification de l'identité des substances organiques non ionisées autres que les sels d'acides et de bases organiques.

La méthode nécessite dans tous les cas l'utilisation d'une substance de référence (Figure 4 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II) ou d'un spectre de référence (Figure 5 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II), (Figure 6 : Extrait de la BP 2015 - Spectre de référence de la méthadone).

L'utilisation d'une substance de référence est préférable.

Toutefois la spectrométrie d'absorption infrarouge présente des limites :

- Sels d'acides ou de bases organiques => Ajout de tests d'identification des contre-ions (Chlorures …).
- Substances chimiquement apparentées => Point de fusion – Chromatographie sur couche mince … .
- Polymorphisme => Recristallisation avant enregistrement des spectres.
- Isomères optiques => Essai du pouvoir rotatoire spécifique ou de l'angle de rotation optique.

SPECTROMÉTRIE D'ABSORPTION DANS L'ULTRAVIOLET ET LE VISIBLE

Méthode habituellement non spécifique en tant qu'identification à moins que le spectre ne présente plusieurs maximums et minimums d'absorption.

POINT DE FUSION – POINT DE SOLIDIFICATION – POINT D'ÉBULLITION

POUVOIR ROTATOIRE SPÉCIFIQUE

CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE

RÉACTIONS CHIMIQUES

ESSAI

Objectif : Vise essentiellement à limiter les impuretés dans les substances chimiques à usage pharmaceutique.

On distingue :

- Les essais spécifiques. Exemple : Acide oxalique – Cuivre … .
- Les essais non spécifiques. Exemple : Aspect de la solution – pH – Acidité ou alcalinité … .
- Les essais selon la méthodologie employée. Exemple : Absorbance – Pouvoir rotatoire … .

ESSAIS DES SUBSTANCES APPARENTÉES

Les substances apparentées sont les impuretés organiques qui ont pour origine :

- Les intermédiaires ou sous-produits de synthèse.
- Les substances co-extraites dans les produits d'origine naturelle.
- Les produits de dégradation.

Les techniques analytiques utilisées pour l'essai des substances apparentées sont des techniques séparatives. Sont utilisées :

- La chromatographie sur couche mince.
- La chromatographie liquide.
- La chromatographie en phase gazeuse.
- L'électrophorèse capillaire.

Sous la rubrique IMPURETÉS (Figure 7 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tomme II) sont classées les substances apparentées en :

- Impuretés spécifiées : Ceux sont celles qui sont présentes dans les lots actuels de substances utilisées dans les médicaments autorisés et auxquelles est associé un critère d'acceptation individuel.
- Impuretés non spécifiées : Pour ces impuretés est généralement appliqué un critère d'acceptation correspondant au seuil d'identification.

Des étalons sont utilisés pour qualifier et quantifier ces impuretés. On distingue :

- soit un étalon de référence pour chaque impureté,
- soit un étalon de référence de la substance à examiner contenant tout ou partie des impuretés spécifiées, accompagné d'un chromatogramme.

ESSAI DES SOLVANTS RÉSIDUELS

Les solvants résiduels sont des substances chimiques volatiles utilisées ou produites lors de la fabrication de substances médicamenteuses ou d'excipients.

Les solvants résiduels sont répertoriés selon leur toxicité en trois classes :

- Classe 1 / Solvants à éviter : Carcinogènes humains connus ou fortement suspectés, dangereux pour l'environnement.
  Exemple : Benzène – cancérigène – limite 2 ppm.
- Classe 2 / Solvants dont l'utilisation est soumise à limitation : Carcinogènes animaux non-génotoxiques ou éventuels agents causaux d'autres effets toxiques irréversibles tels que la neurotoxicité ou la tératogénécité.
  Exemple : Acétonitrile – limite 410 ppm.
- Classe 3 / Solvants à faible potentiel toxique : Solvants à faible potentiel toxique pour l'homme. Un seul seuil d'admissibilité est établi : 5000 ppm.
  Exemple : Acétate d'éthyle – Ethanol – Acétone … .

L'identification et le contrôle des solvants résiduels font l'objet d'une monographie générale « *Identification et contrôle des solvants résiduels 2.4.24* » où il est préconisé d'opérer par chromatographie en phase gazeuse.

ESSAI DES MÉTAUX LOURDS :

Les métaux lourds sont des impuretés élémentaires provenant des procédés de fabrication des substances pharmaceutiques. Elles ont pour origine les réactifs, les ligands ou les catalyseurs utilisés.

L'essai des métaux lourds tel que décrit dans le chapitre général de la Ph. Eur. (Figure 8 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I), (Figure 9 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I) consiste en une analyse semi-

quantitative où l'intensité de la coloration après réaction de la solution à examiner est comparée à une solution témoin de plomb. Cet essai présente les désavantages de non sensibilité et de non spécificité.

A compter de la 9e édition de la Ph. Eur., l'essai des métaux lourds sera supprimé dans toutes les monographies spécifiques portant sur des substances à usage humain ou vétérinaire. L'essai ne figure plus dans les nouvelles monographies.

En Janvier 2018, les lignes directrices énoncées dans le guideline *ICH Q3D : Impuretés élémentaires* deviendront applicables à tous les médicaments pour usage humain présents sur le marché. Les méthodes analytiques peuvent être développées à l'aide du chapitre général *Dosage des résidus de catalyseurs ou de réactifs métalliques 2.4.20* (Figure 8 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I).

En effet, plusieurs techniques analytiques permettant l'identification et la quantification de chaque métal lourd seront préconisées :

- Spectrométrie d'émission atomique.
- Spectrométrie d'absorption atomique.
- Spectrométrie de fluorescence X.
- Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif.
- Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif.

Actuellement ces changements sont déjà en vigueur dans l'USP. Il existe un nouveau chapitre général *Elemental impurties – Procedures <233>* où sont décrites deux procédures d'analyse :

- Première procédure par spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif.
- Deuxième procédure par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif.

ESSAI DES ENDOTOXINES BACTÉRIENNES

Cet essai (Figure 8 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I) est préconisé pour le contrôle des substances pharmaceutiques destinées à être administrées par injection ou irrigation.

Les nouvelles monographies ne comportent plus d'essai des endotoxines bactériennes. La conformité à l'essai est exigée dans la monographie générale *Substance pour usage pharmaceutique* (Figure 9 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I). L'essai n'est maintenu que lorsqu'il est nécessaire de recourir à un mode particulier de préparation des échantillons ou à une méthode spécifique.

ESSAI DE LA PERTE LA DESSICCATION

Cet essai (Figure 10 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I) mesure l'eau mais aussi les autres substances volatiles. Il est réalisé à une température de 105°C. La prise d'essai est choisie de telle sorte à ce que la différence des masses avant/après dessiccation soit comprise entre 5 et 50 mg.

Cinq types de conditions opératoires standards sont décrits :

- « dans un dessiccateur » (sur du P_2O_5 à la pression atmosphérique et à température ambiante),
- « sous vide » (sur du P_2O_5 à 1.5 – 2.5 kPa et à température ambiante),
- « sous vide » avec indication d'un intervalle de température (sur du P_2O_5 à 1.5 – 2.5 kPa et dans l'intervalle de température spécifié dans la monographie),

- « à l'étuve » avec indication d'un intervalle de température (la température spécifiée est de préférence de 105°C (pour harmonisation avec la JP[1] et l'USP), avec une tolérance implicite de ± 2°C),
- « sous vide poussé » (sur du P_2O_5 à pression ≤ 0.1 kPa et à température prescrite dans la monographie).

Le pentoxyde de diphosphore est l'agent de dessiccation utilisé ; toutefois, en raison de sa toxicité, il est recommandé lors de l'élaboration de nouvelles monographies d'étudier la possibilité de le remplacer par un tamis moléculaire de 0.5 nm.

ESSAI DU DOSAGE DE L'EAU

Cet essai est réalisé par deux méthodes décrites dans les chapitre généraux : *Semi-microdosage de l'eau 2.5.12* (Figure 11 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I) et *Microdosage de l'eau 2.5.32* (Figure 12 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I).

Le principe est basé sur une réaction d'oxydoréduction qui consomme une molécule d'eau. Cette réaction fut découverte par Bensun en 1853 :

$$I_2 + SO_2 + 2H_2O \leftrightarrow 2HI + H_2SO_4$$

Karl-Fischer en 1935 optimise la réaction en proposant l'utilisation du méthanol comme solvant et la pyridine (base) pour déplacer l'équilibre de la réaction vers la droite.

$$RN.I_2 + RN.SO_2 + RN + H_2O \rightarrow 2RNH^+I^- + RN.SO_3$$ (avec RN : la base)

Le méthanol permet aussi de limiter les réactions indésirables:

$$RN.SO_3 + CH_3OH \rightarrow RNH^+CH_3SO_4^-$$ (Présence de méthanol)

$$RN.SO_3 + H_2O \rightarrow RNH^+HSO_4^-$$ (Réaction indésirable en absence de methanol)

E. Schols en 1984 substitue la pyridine par l'imidazole qui est moins nocif et qui donne un pH plus favorable.

Le semi-microdosage de l'eau se fait par un titrage volumétrique basé sur une réaction quantitative de l'eau avec le réactif de Karl-Fischer : Iode – Dioxyde de soufre – Base – méthanol. Le point de fin de titrage est déterminé par potentiométrie.

Le microdosage de l'eau se fait par coulométrie. Par opposition à la méthode volumétrique, l'iode est produit de manière électrochimique et réagit immédiatement avec l'eau en présence de dioxyde de soufre, de la base et du méthanol. La quantité d'eau contenue dans la substance est directement proportionnelle à la quantité d'électricité jusqu'au point de fin de titrage.

DOSAGE

Objectif : Contrôle de la teneur en substance dans la matière première.

Les techniques analytiques les plus redondantes sont :

[1] Pharmacopée Japonaise

LES TITRAGES VOLUMÉTRIQUES

Mettent en jeu des réactions acido-basiques, de précipitations, de complexations ou d'oxydoréductions. Le point de fin de titrage est déterminé par un indicateur coloré ou par potentiométrie.

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE OU CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

SPECTROMÉTRIE D'ABSORPTION MOLÉCULAIRE DANS L'ULTRAVIOLET ET LE VISIBLE

MÉTHODES PHARMACOPÉES DE CONTRÔLE DES PRODUITS FINIS

En plus des tests décrits sous les rubriques : IDENTIFICATION, ESSAI et DOSAGE ; d'autres tests sont préconisés selon la forme pharmaceutique. Ces tests sont énoncés pour chaque forme dans des chapitres généraux. Par exemple pour la forme comprimé (Figure 13 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I), les essais suivants sont à réaliser :

UNIFORMITÉ DES PRÉPARATIONS UNIDOSES

Les comprimés doivent satisfaire à l'essai d'*uniformité des préparations unidoses 2.9.40*. Cet essai récemment inscrit aux Pharmacopées Européenne et Américaine remplace, sauf dans les cas justifiés et autorisés, les essais d'*uniformité de teneur 2.9.6* et *uniformité de masse 2.9.5*.

Pour chaque forme pharmaceutique solide, on procède, selon la quantité et la proportion de la substance active dans le comprimé, soit par un contrôle de l'uniformité de teneur, soit par un contrôle de la variation de masse (Figure 14: Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I).

DISSOLUTION

Dans le chapitre général *Essai de dissolution des formes solides 2.9.3*, quatre appareils dissolutests sont préconisés :

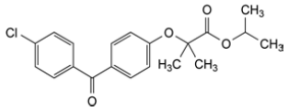
- Appareil 1 : Appareil à panier.
- Appareil 2 : Appareil à palettes.
- Appareil 3 : Appareils à pistons.
- Appareils 4 : Cellule à flux continu.

Une description détaillée de chaque appareil est donnée avec le mode opératoire spécifique à chaque forme de comprimé (forme conventionnelle, forme à libération retardée…). On trouve aussi les critères d'acceptation pour l'interprétation des résultats.

01/2008:1322

FÉNOFIBRATE

Fenofibratum



$C_{20}H_{21}ClO_4$ M_r 360,8
[49562-28-9]

IDENTIFICATION

A. Point de fusion (*2.2.14*) : 79 °C à 82 °C.

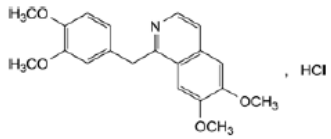
B. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (*2.2.24*).
Préparation : pastilles.
Comparaison : *fénofibrate SCR*.

Figure 1 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II

01/2008:0102
corrigé 7.0

PAPAVÉRINE (CHLORHYDRATE DE)

Papaverini hydrochloridum



$C_{20}H_{22}ClNO_4$ M_r 375,9
[61-25-6]

IDENTIFICATION

Première identification : *A, D.*

Seconde identification : *B, C, D.*

A. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (*2.2.24*).
Comparaison : *chlorhydrate de papavérine SCR*.

B. Chromatographie sur couche mince (*2.2.27*).
Solution à examiner. Dissolvez 5 mg de chlorhydrate de papavérine dans du *methanol R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.
Solution témoin. Dissolvez 5 mg de *chlorhydrate de papavérine SCR* dans du *methanol R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.
Plaque : *plaque au gel de silice GF_{254} pour CCM R*.
Phase mobile : *diéthylamine R, acétate d'éthyle R, toluène R* (10:20:70 *V/V/V*).
Application : 10 µL.
Développement : sur les 2/3 de la plaque.
Séchage : à 100-105 °C pendant 2 h.
Détection : examinez en lumière ultraviolette à 254 nm.
Résultats : la tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner est semblable quant à sa position et ses dimensions à la tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

C. A 10 mL de solution S (voir Essai), ajoutez goutte à goutte 5 mL d'*ammoniaque R* et laissez reposer pendant 10 min. Lavez et desséchez le précipité. Le point de fusion (*2.2.14*) est de 146 °C à 149 °C.

D. Le chlorhydrate de papavérine donne la réaction (a) des chlorures (*2.3.1*).

Figure 2 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II

2.2.24. SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION DANS L'INFRAROUGE

Les spectrophotomètres infrarouges sont adaptés aux mesures de spectres dans la région de 4000-650 cm^{-1} (2,5-15,4 µm) ou éventuellement jusqu'à 200 cm^{-1} (50 µm).

APPAREILLAGE

Les spectrophotomètres utilisés pour l'enregistrement de spectres comprennent une source de lumière appropriée, un monochromateur ou un interféromètre, et un détecteur.

Les spectrophotomètres à transformée de Fourier utilisent un rayonnement polychromatique. Ils effectuent le calcul du spectre dans le domaine de fréquence, à partir des données obtenues, par transformée de Fourier. Des spectrophotomètres munis d'un système optique susceptible de fournir un rayonnement monochromatique dans la région de mesure peuvent également être utilisés. Le spectre est généralement présenté en fonction de la transmittance, c'est-à-dire le rapport de l'intensité du rayonnement transmis à celle du rayonnement incident. Il peut également être présenté en fonction de l'absorbance.

L'absorbance (A) est définie comme le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance (T) :

$$A = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

T = $\frac{I}{I_0}$,

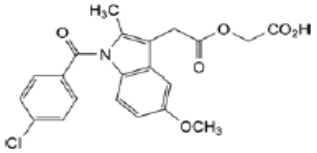
I_0 = intensité du rayonnement incident,

I = intensité du rayonnement transmis.

Figure 3 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

ACÉMÉTACINE

Acemetacinum



$C_{21}H_{18}ClNO_6$ M_r 415,8
[53164-05-9]

DÉFINITION

Acide [[[1-(4-chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]acétyl]oxy]acétique.

Teneur : 99,0 pour cent à 101,0 pour cent (substance desséchée).

CARACTÈRES

Aspect : poudre cristalline, jaune ou jaune-vert.

Solubilité : pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans l'acétone, peu soluble dans l'éthanol anhydre.

L'acémétacine présente le phénomène du polymorphisme (*5.9*).

IDENTIFICATION

Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (*2.2.24*).

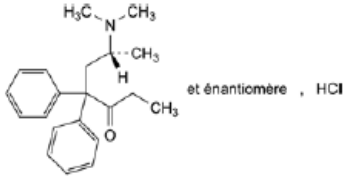
Comparaison : *acémétacine SCR*.

Si les spectres obtenus à l'état solide présentent des différences, dissolvez séparément la substance à examiner et la substance de référence dans de l'*acétone R*, évaporez à siccité et enregistrez de nouveaux spectres à partir des résidus.

Figure 4 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II

MÉTHADONE (CHLORHYDRATE DE)

Methadoni hydrochloridum



$C_{21}H_{28}ClNO$ M_r 345,9
[1095-90-5]

IDENTIFICATION

Première identification : A, C, D.

Seconde identification : A, B, D.

A. Angle de rotation optique (voir Essai).

B. Point de fusion (*2.2.14*) : 233 °C à 236 °C.

C. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (*2.2.24*).
Comparaison : spectre de référence du chlorhydrate de méthadone de la Ph. Eur.

D. Prélevez 1 mL de solution S (voir Essai) et complétez à 5 mL avec de l'*eau R*. Ajoutez 1 mL d'*ammoniaque diluée R1*. Mélangez, laissez reposer pendant 5 min et filtrez. Le filtrat donne la réaction (a) des chlorures (*2.3.1*).

Figure 5 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome II

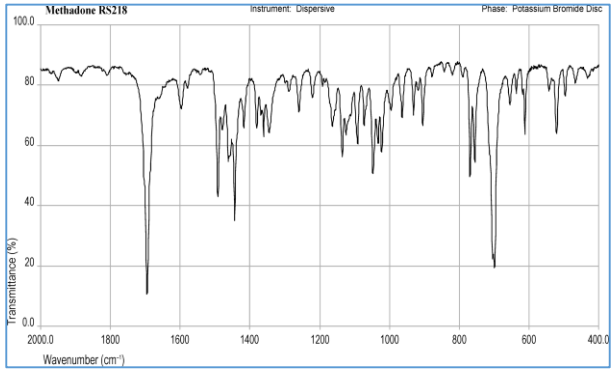
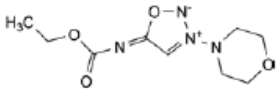


Figure 6 : Extrait de la BP 2015 - Spectre de référence de la méthadone

04/2008:1701
corrigé 6.5

MOLSIDOMINE

Molsidominum



$C_9H_{14}N_4O_4$ M_r 242,2
[25717-80-0]

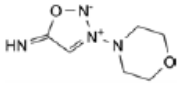
ESSAI

Substances apparentées. Chromatographie liquide (*2.2.29*).

IMPURETÉS

Impuretés spécifiées : B, E.

Autres impuretés décelables (si elles sont présentes à une teneur suffisante, les substances suivantes seront détectées par l'un des essais de la monographie. Elles sont limitées par le critère général d'acceptation applicable aux autres impuretés ou impuretés non spécifiées, ou par les dispositions de la monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*. Il n'est donc pas nécessaire de les identifier pour démontrer la conformité de la substance. Voir également chapitre *5.10. Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique*) : *A, C, D.*

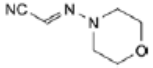


A. 3-(morpholin-4-yl)sydnonimine (linsidomine),

B. R = NO : 4-nitrosomorpholine,

D. R = CHO : morpholine-4-carbaldéhyde,

E. R = H : morpholine,



C. (2*E*)-(morpholin-4-ylimino)acétonitrile.

Figure 7 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tomme II

07/2010:20408

2.4.8. MÉTAUX LOURDS

Le *réactif au thioacétamide R* est utilisé dans les méthodes décrites ci-après. Comme alternative, la *solution de sulfure de sodium R1* (0,1 mL) est généralement appropriée. Etant donné que les essais prescrits dans les monographies ont été développés en utilisant le *réactif au thioacétamide R*, il est nécessaire, s'il est remplacé par la *solution de sulfure de sodium R1*, de préparer également pour les méthodes A, B et H une solution de contrôle à partir de la quantité de substance à examiner prescrite pour l'essai, additionnée du volume de solution étalon de plomb prescrite pour la préparation de la solution témoin. L'essai n'est valable que si la solution de contrôle donne une coloration au moins aussi intense que la solution témoin.

Figure 8 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

04/2013:20420

2.4.20. DOSAGE DES RÉSIDUS DE CATALYSEURS OU DE RÉACTIFS MÉTALLIQUES

PROCÉDURES

On peut utiliser pour le dosage des résidus métalliques toute procédure adéquate de préparation des échantillons, de même que toute technique de mesure appropriée – par exemple les méthodes *2.2.22. Spectrométrie d'émission atomique* (SEA), *2.2.23. Spectrométrie d'absorption atomique* (SAA), *2.2.37. Spectrométrie de fluorescence-X* (XRFS), *2.2.57. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif* (SEA-ICP), *2.2.58. Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif* (SM-ICP) et les essais *2.4.2. Arsenic, 2.4.8. Métaux lourds, 2.4.9. Fer, 2.4.10. Plomb dans les sucres, 2.4.15. Nickel dans les polyols* ou *2.4.31. Nickel dans les huiles végétales hydrogénées* – dès lors que la méthode a préalablement fait l'objet d'un essai initial de conformité du système ou d'une procédure de validation comme indiqué dans le présent chapitre.

Figure 9: Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

2.6.14. ESSAI DES ENDOTOXINES BACTÉRIENNES

L'essai des endotoxines bactériennes (EEB) est destiné à la détection ou la quantification des endotoxines produites par des bactéries gram-négatives, au moyen d'un lysat d'amoebocytes de limule (*Limulus polyphemus* ou *Tachypleus tridentatus*). Il peut être réalisé par 3 techniques : gélification (induction de la formation d'un gel), turbidimétrie (développement d'une turbidité par clivage d'un substrat endogène), colorimétrie (développement d'une coloration par clivage d'un complexe peptide-chromogène synthétique).

6 méthodes sont décrites dans le présent chapitre :

Méthode A. Gélification : essai limite.

Méthode B. Gélification : essai semi-quantitatif.

Méthode C. Turbidimétrie cinétique.

Méthode D. Colorimétrie cinétique.

Méthode E. Colorimétrie en point final.

Méthode F. Turbidimétrie en point final.

Figure 8 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

SUBSTANCES POUR USAGE PHARMACEUTIQUE

Corpora ad usum pharmaceuticum

Endotoxines bactériennes (*2.6.14*). Les substances pour usage pharmaceutique présentées comme substances de qualité « exempte d'endotoxines bactériennes » satisfont à l'essai des endotoxines bactériennes. La limite et la méthode d'essai à utiliser (s'il ne s'agit pas de la méthode A de gélification) sont indiquées dans la monographie de la substance. La limite est calculée selon les *Recommandations pour la réalisation de l'essai des endotoxines bactériennes* du chapitre *2.6.14. Essai des endotoxines bactériennes*, sauf si une limite inférieure est justifiée au vu des résultats obtenus sur les lots de production, ou est exigée par l'Autorité compétente. Lorsqu'un essai des endotoxines bactériennes est prescrit, il n'est pas exigé d'essai des pyrogènes.

Figure 9 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

2.2.32. PERTE À LA DESSICCATION

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage *m/m*.

Mode opératoire. Placez la quantité prescrite de la substance à examiner dans un flacon à tare, desséché lui-même au préalable dans les conditions précisées pour la substance à examiner. La dessiccation de la substance se fait jusqu'à masse constante ou pendant la durée prescrite à l'aide d'un des procédés décrits ci-après. Si la température de dessiccation est indiquée par une seule valeur plutôt qu'un intervalle, la dessiccation est effectuée à la température prescrite ± 2 °C.

Figure 10 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

01/2008:20512
corrigé 6.0

2.5.12. SEMI-MICRODOSAGE DE L'EAU

Le semi-microdosage de l'eau repose sur la réaction quantitative de l'eau avec un réactif contenant du dioxyde de soufre et de l'iode dans un milieu anhydre approprié, en présence d'une base qui présente une capacité tampon suffisante.

Le point de fin de titrage est déterminé au moyen de 2 électrodes indicatrices identiques reliées à une source électrique qui maintient entre les électrodes soit une intensité de courant constante soit un potentiel constant.

Figure 11 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

01/2008:20532

2.5.32. MICRODOSAGE DE L'EAU

PRINCIPE

Le titrage coulométrique de l'eau repose sur la réaction quantitative de l'eau avec du dioxyde de soufre et de l'iode dans un milieu anhydre, en présence d'une base qui présente une capacité tampon suffisante.

Par opposition à la méthode volumétrique décrite sous (*2.5.12*), l'iode est produit de manière électrochimique dans la cuve, par oxydation d'iodure. L'iode produit au niveau de l'anode réagit immédiatement avec l'eau et le dioxyde de soufre contenus dans la cuve. La quantité d'eau contenue dans la substance est directement proportionnelle à la quantité d'électricité jusqu'au point de fin de titrage.

Figure 12 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

COMPRIMÉS

Compressi

ESSAI

Uniformité des préparations unidoses (*2.9.40*). Les comprimés satisfont à l'essai ou, dans les cas justifiés et autorisés, aux essais d'uniformité de teneur et/ou d'uniformité de masse présentés ci-après. Les drogues végétales et préparations à base de drogues végétales présentes dans cette forme pharmaceutique ne sont pas soumises aux dispositions de ce paragraphe.

Uniformité de teneur (*2.9.6*). Sauf indication contraire ou exception justifiée et autorisée, les comprimés dont la teneur en substance active est inférieure à 2 mg ou dans lesquels la substance active représente moins de 2 pour cent de la masse totale satisfont à l'essai A. Si la préparation contient plusieurs substances actives, l'essai ne s'applique qu'à celles qui répondent aux conditions indiquées ci-dessus.

Sauf exception justifiée et autorisée, les comprimés enrobés autres que les comprimés pelliculés satisfont à l'essai A quelle que soit leur teneur en substance(s) active(s).

Uniformité de masse (*2.9.5*). Les comprimés non enrobés et, sauf exception justifiée et autorisée, les comprimés pelliculés satisfont à l'essai. Lorsqu'un essai d'uniformité de teneur est prescrit, ou justifié et autorisé, pour toutes les substances actives, l'essai d'uniformité de masse n'est pas exigé.

Dissolution. Un essai approprié peut être réalisé pour démontrer que la libération de la ou des substances actives est satisfaisante, par exemple l'un des essais décrits dans le chapitre *2.9.3. Essai de dissolution des formes solides*.

Lorsqu'un essai de dissolution est prescrit, un essai de désagrégation peut ne pas être exigé.

Figure 13 : Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I

Table 2.9.40.-1. – *Application aux différentes formes pharmaceutiques des essais d'uniformité de teneur (UT) et de variation de masse (VM)*

Forme pharmaceutique	Type	Sous-type	Quantité et proportion de substance active	
			≥ 25 mg et ≥ 25 pour cent	< 25 mg ou < 25 pour cent
Comprimés	non enrobés		VM	UT
	enrobés	pelliculés	VM	UT
		autres	UT	UT
Capsules	enveloppe dure		VM	UT
	enveloppe molle	suspensions, émulsions, gels	UT	UT
		solutions	VM	VM
Préparations solides en récipients unidoses	mono-composant		VM	VM
	multi-composants	solutions cryodesséchées dans le récipient final	VM	VM
		autres	UT	UT
Solutions contenues dans des récipients unidoses			VM	VM
Autres			UT	UT

Figure 14: Extrait de la Ph. Eur. 8e édition – Tome I