



Année : 2020

ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT



Thèse N° : 064

MÉTHODES D'ANALYSE DES IMPURETÉS ÉLÉMENTAIRES DANS LES PRODUITS FINIS, LES SUBSTANCES ACTIVES ET EXCIPIENTS : REVUE SYSTÉMATIQUE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le: / / 2020

PAR :

Madame THIAW SEYNABOU

Né le 26 Décembre 1992 à Pikine

Pour l'Obtention du Diplôme de

Docteur en Pharmacie

Mots Clés : Analyse - Impureté - Élément - Produit pharmaceutique

Membres du Jury :

Madame Mina AIT EL CADI

Professeur de Toxicologie

Monsieur Mustapha BOUATIA

Professeur de Chimie Analytique et Bromatologie

Monsieur Rachid NEJJARI

Professeur de Pharmacognosie

Monsieur Amine CHEIKH

Docteur, Directeur de la Direction Pharmacie Hôpital Cheikh Zaid

Présidente

Rapporteur

Juge

Juge

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما
علمتنا إنك أنت العليم الحكيم

اللَّهُ
صَدَقَ
الْعَظِيمُ

سورة البقرة الآية 31



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969	: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013	: Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ADMINISTRATION:

Doyen Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes

Professeur Brahim LEKEHAL

Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Toufiq DAKKA

Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Younes RAHALI

Secrétaire Général :

Mr. Mohamed KARRA

*Enseignants Militaires

1. ENSEIGNANTS, CHERCHEURS, MÉDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR :

Décembre 1984

Pr. MMOUNI Abdelaziz	Médecine Interne - <u><i>Clinique Royale</i></u>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie-Réanimation
Pr. SETTAFA Abdellatif	Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne - <u><i>Doyen de la FMPR</i></u>
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha	Gynécologie-Obstétrique
Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie-Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie-Réanimation - <u><i>Doyen de FMPO</i></u>
Pr. BAYAHIA Rabéa	Néphrologie
Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif	Chirurgie Générale
Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacologie Générale
Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
Pr. BEZAD Rachid	Gynécologie-Obstétrique <u><i>Méd. Chef Maternité des Orangers</i></u>
Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
Pr. SOUIAYMANI Rachida	Pharmacologie - <u><i>Dir. du Centre National PV Rabat</i></u>
Pr. TAOUFIK Jamal	Chimiothérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALIAT Mohamed	Chirurgie Générale <u><i>Doyen de FMPT</i></u>
Pr. BENSOUDA Adil	Anesthésie-Réanimation
Pr. CHAHEDOUAZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie-Obstétrique
Pr. ELOUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
Pr. FELIAT Rokaya	Cardiologie
Pr. JIDDAN Mohamed	Anatomie
Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

*Enseignants Militaires

Mars 1994

Pr.BENJAAFARNoureddine
Pr.BENRAISNozha
Pr.CAOUIMalika
Pr.CHRAIBI Abdelmjid
Pr.ELAMRANISabah
Pr.ERROUGANIAbdelkader
Pr.ESSAKALIMalika
Pr.ETTAYEBIFouad
Pr.IFRINELahssan
Pr. RHRABBrahim
Pr.SENOUCIKarima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
EndocrinologieetMaladiesMétaboliques Doyen de la FMPA
GynécologieObstétrique
ChirurgieGénérale- Directeur du CHIS
Immunologie
ChirurgiePédiatrique
ChirurgieGénérale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr.ABBARMohamed*
Pr.BENTAHIA Abdelali
Pr.BERRADAMohamedSaleh
Pr.CHERKAOUILallaOuafae
Pr.IAKHDARAmia
Pr.MOUANENezha

Urologie Inspecteur du SSM
Pédiatrie
Traumatologie-Orthopédie
Ophtalmologie
GynécologieObstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr.ABOUQUALRedouane
Pr.AMRAOUMohamed
Pr.BAIDADAAbdelaziz
Pr.BARGACHSamir
Pr. ELMESNAOUIAbbes
Pr.ESSAKALIHOUSSYNILeila
Pr.IBENATIYAANDALOUSSIAhmed
Pr.OUAZZANICHAHDIBahia
Pr.SEFIANIAbdelaziz
Pr.ZEGGWAGHAmineAli

RéanimationMédicale
ChirurgieGénérale
GynécologieObstétrique
GynécologieObstétrique
ChirurgieGénérale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
RéanimationMédicale

Décembre 1996

Pr.BELKACEMRachid
Pr.BOUIANOUARAbdelkrim
Pr.ELAIAMIELFARICHAELHassan
Pr.GAOUZIAhmed
Pr. OUZEDDOUNNaima
Pr.ZBIRELMehdi*

ChirurgiePédiatrie
Ophtalmologie
ChirurgieGénérale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie Directeur HMI Mohammed V

*Enseignants Militaires

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELIAT Nadia
Pr. KADDOURINoureddine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOUMohamedKhalid
Pr. MAHRAOUICHafiq
Pr. TOUFIQJallal
Pr. YOUSFIMALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Neurologie
Cardiologie
ChirurgiePédiatrique
Urologie
ChirurgieGénérale
Pédiatrie
Psychiatrie Directeur Hôp. Ar.-razi Salé
GynécologieObstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMARALI
Pr. BOUGTAB Ahdesslam
Pr. ERRIHANI Hassan
Pr. BENKIRANEMajid*

Neurologie Doyen de la FMP Abulcassis
ChirurgieGénérale
OncologieMédicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABIDA Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN DakhamaBadr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr.
CHARIFCHEFCHAOUNIALMontacer
Pr. ECHARRABELMahjoub
Pr. ELFTOUHMustapha
Pr. ELMOSTARCHIDBrahim*
Pr. TACHINANTERajae
Pr. TAZIMEZALEKZoubida

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie Directeur Hôp. My Youssef
ChirurgieGénérale

ChirurgieGénérale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDISaadia
Pr. AJANAFatimaZohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTIMohammed
Pr. ECH.CHERIFELKETTANISelma
Pr. EL HASSANIamine
Pr. ELKHADER Khalid
Pr. GHARBIMohamedElHassan
Pr. MDAGHRIALAOUIAsmae

Neurologie
Gastro-Entérologie
ChirurgieGénérale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie • Directeur Hôp. Cheikh Zaid
Urologie
EndocrinologieetMaladiesMétaboliques
Pédiatrie

*Enseignants Militaires

Décembre 2001

Pr.BALKHIHicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMORJouda
Pr.BENELBARHDADIlmane
Pr. BENNANIRajae
Pr.BENOUACHANETHami
Pr.BEZZAAhmed*
Pr.BOUCHIKHIIDRISSIMedLarbi
Pr.BOUMDINEIHassane*
Pr.CHATLatifa
Pr.DAALIMustapha*
Pr.ELHIJRIAhmed
Pr.ELMAAQILIMoulay Rachid
Pr.ELMADHITarik
Pr.ELOUNANIMohamed
Pr.ETTAIRSaid
Pr. GAZZAZMiloudi*
Pr.HRORAAbdelmalek
Pr.KABIRIELHassane*
Pr.IAMRANI MoulayOmar
Pr. LEKEHALBrahim
Pr.MEDARHRIJalil
Pr.MIKDAMEMohammed*
Pr.MOHSINERaouf
Pr.NOUINIYassine
Pr.SABBAHFarid
Pr.SEFIANYasser
Pr.TAOUFIQBENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
ChirurgieGénérale
Pédiatrie•[Directeur Hôp Univ. Cheikh Khalifa](#)
Neuro-Chirurgie
ChirurgieGénérale[Directeur Hôpital Ibn Sina](#)
ChirurgieThoracique
TraumatologieOrthopédie
Chirurgie VasculairePériphérique[V-D chargé Aff Acad. Est.](#)
ChirurgieGénérale
HématologieClinique
ChirurgieGénérale
Urologie
ChirurgieGénérale
ChirurgieVasculairePériphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

AL BOUZIDI Abderrahmane*

Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. CHOHO Abdelkrim *

AnatomiePathologique

Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie [Dir. Adj. HMI Mohammed V](#)
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Chirurgie Générale

*Enseignants Militaires

Pr.CHKIRATEBouchra
 Pr.ELAIAMIELFellousSidiZouhair
 Pr.ELHAOURIMohamed*
 Pr. FILALIADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELIAH ElHassan
 Pr.AMRANIMariam
 Pr.BENBOUZIDMohammedAnas
 Pr.BENKIRANEAhmed*
 Pr. BOUL.AADAS Malik
 Pr.BOURAZZAAhmed*
 Pr.CHAGARBelkacem*
 Pr.CHERRADINadia
 Pr.ELFENNIJamal*
 Pr.ELHANCHIZAKI
 Pr.ELKHORASSANIMohamed
 Pr. HACH Hafid
 Pr.JABOUIRIKFatima
 Pr.KHARMAZMohamed
 Pr.MOUGHIL Said
 Pr.OUBAAZAbdelbarre*
 Pr.TARIBAbdelilah*
 Pr.TIJAMIFouad
 Pr.ZARZURJamila

Janvier 2005

Pr.ABBASSIAbdellah
 Pr.ALLALIFadoua
 Pr.AMAZOUZIAbdellah
 Pr.BAHIRIRachid
 Pr.BARKATamina
 Pr.BENYASSAatif
 Pr.DOUDOUHAbderrahim*

*Enseignants Militaires

Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Gynécologie Obstétrique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Ota-Rhine-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxille-faciale
 Neurologie
 TraumatologieOrthopédie
 AnatomiePathologique
 Radiologie
 GynécologieObstétrique
 Pédiatrie
 ChirurgieGénérale
 Pédiatrie
 TraumatologieOrthopédie
 ChirurgieCardia-Vasculaire
 Ophtalmologie
 PharmacieClinique
 ChirurgieGénérale
 Cardiologie

ChirurgieRéparatriceetPlastique
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Rhumatologie [Di recteur Hôp. Al Ayaché Salé](#)
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Biophysique

Pr.HAJJILeila
Pr.HESSISSENLeila
Pr. JIDALMohamed*
Pr.LAAROUSSIMohamed
Pr.LYAGOUBIMohammed
Pr.SBIHISouad
Pr.ZERAIDINajia

AVRIL 2006

Pr.ACHEMLALLahsen*
Pr.BELMEKKIAbdelkader*
Pr.BENCHEIKHRazika
Pr.BIYIAbdelhamid*
Pr.BOUHAFSMohamedElAmine
Pr.BOULAHYAAbdellatif*

Pr.CHENGUETIANSARIAAnas
Pr.DOGHMINawal
Pr.FELIATibtissam
Pr.FAROUDYMamoun
Pr.HARMOUCHE Hicham
Pr.IDRISSLAHLOUAMine*
Pr.JROUNDILaila
Pr.KARMOUNITariq
Pr.KILIAmina
Pr.KISRAHassan
Pr.KISRAMounir
Pr.LAATIRISAbdelkader*
Pr.LMIMOUNIBadreddine*
Pr.MANSOURIHamid*
Pr.OUANASSAbderrazzak
Pr.SAFISoumaya*
Pr.SEKKATFatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLALSaida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr.ABIDIKhalid
Pr.ACHACHILeila
Pr.ACHOURAbdessamad*
Pr.AITHOUSSAMahdi*
Pr.AMHAIJILArbi*

*Enseignants Militaires

Cardiologie (*mise en disponibilité*)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie ·Pédiatrique
Chirurgie Cardio-Vasculaire.*Di recteur Hôpital Ibn SinaMar*
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie - Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo - Phtisiologie
Biochimie
Pneumo- Phtisiologie

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardia vasculaire
Traumatologie orthopédie

Pr.AOUFISarra
 Pr.BAITEAbdelouahed*
 Pr.BALOUCHLhousaine*
 Pr.BENZIANEHamid*
 Pr.BOUTIMZINENourdine
 Pr.CHERKAOUINaoual*
 Pr.EHIRCHIOUAbdelkader*
 Pr.ELBEKKALIYoussef*
 Pr.ELABSIMohamed
 Pr.ELMOUSSAOUIRachid
 Pr.ELOMARIFatima
 Pr.GHARIBNoureddine
 Pr.HADADIKhalid*
 Pr.ICHOUMohamed*
 Pr.ISMAILINadia
 Pr.KEBDANITayeb
 Pr.LOUZI Lhoussain*
 Pr.MADANINAoufel
 Pr.MAHIMohamed*
 Pr.MARCKarima
 Pr.MASRARAzlarab
 Pr.MRANISaad*
 Pr.OUZZIFEzzohra
 Pr.RABHIMonsef*
 Pr.RADOUANEBOUCHAIB*
 Pr.SEFFARMyriame
 Pr.SEKHSOKHYessine*
 Pr.SIFATHassan*
 Pr.TABERKANETMustafa^{11*}
 Pr.TACHFOUTI Samira
 Pr.TAJDINEMohammedTariq*
 Pr.TANANEMansour*
 Pr. TLIGUIHoussain
 Pr.TOUATIZakia

Parasitologie
 Anesthésie réanimation
 Biochimie-chimie
 Pharmacie clinique
 Ophtalmologie
 Pharmacie galénique
 Chirurgie générale
 Chirurgie cardio-vasculaire
 Chirurgie générale
 Anesthésie réanimation
 Psychiatrie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie
 Radiothérapie
 Microbiologie
 Réanimation médicale
 Radiologie
 Pneumo phtisiologie
 Hématologie biologique
 Virologie
 Biochimie-chimie
 Médecine interne
 Radiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Radiothérapie
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Ophtalmologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie-orthopédie
 Parasitologie
 Cardiologie

Mars 2009

Pr.ABOUZAHIRAli *
 Pr. AGADRAomar*
 Pr.AITAIJAbdelmounaim*
 Pr.AKHADDARAli *
 Pr.ALLALINazik
 Pr.AMINEBouchra
 Pr.ARKHAYassir

Médecine interne
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Neuro-chirurgie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie *Di recteur Hôp. des Spécialités*

*Enseignants Militaires

Pr.BELYAMANILahcen *

Pr.BJIJOUYounes

Pr.BOUHSAINSanæ*

Pr. BOUIMohammed*

Pr.BOUNAIMAhmed*

Pr.BOUSSOUGAMostapha*

Pr.CHTATAHassanToufik*

Pr.DOGHMIKamal *

Pr.ELMALKIHadjOmar

Pr. ELOUENNASSMostapha*

Pr.ENNIBIKhalid*

Pr.FATHIKhalid

Pr.HASSIKOUHasna*

Pr.KABBAJNawal

Pr.KABIRIMeryem

Pr.KARBOUBILamya

Pr.IAMSAOURIJamal*

Pr.MARMADELahcen

Pr.MESKINIToufik

Pr.MESSAOUDINEzha*

Pr.MSSROURIRahal

Pr. NASSARltimeade

Pr.OUKERRAJLatifa

Pr.RHORFIIsmaïlAbderrahmani*

Anesthésie Réanimation

Anatomie

Biochimie-chimie

Dermatologie

Chirurgie Générale

Traumatologie-orthopédie

Chirurgie Vasculaire Périphérique

Hématologie clinique

Chirurgie Générale

Microbiologie

Médecine interne

Gynécologie obstétrique

Rhumatologie

Gastro-entérologie

Pédiatrie

Pédiatrie

Chimie Thérapeutique

Chirurgie Cardio-vasculaire

Pédiatrie

Hématologie biologique

Chirurgie Générale

Radiologie

Cardiologie

Pneumo-Phtisiologie

Octobre 2010

Pr.ALILOUMustapha

Pr.AMEZIANETAoufik*

Pr.BEIAGUIDAbdelaziz

Pr. CHADLIMariama*

Pr.CHEMSIMohamed*

Pr.DAMIAbdellah*

P r.DARBIAbdellatif*

Pr.DENDANEMohammedAnouar

Pr. ELHAFIDINaima

Pr. ELKHARRASAbdennasser*

Pr. ELMAZOUZSamir

Pr.ELSAYEGHHachem

Pr.ERRABIHlkram

Pr.LAMALMINajat

Pr.MOSADIKAhlam

Pr.MOUJAHIDMountassir*

Pr. NAZIH Mouna*

Pr.ZOUAIDIAFouad

Anesthésie réanimation

MédecineInterne Directeur ERSSM

Physiologie

Microbiologie

Médecine Aéronautique

Biochimie, Chimie

Radiologie

Chirurgie Pédiatrique

Pédiatrie

Radiologie

Chirurgie Plastique et Réparatrice

Urologie

Gastro-Entérologie

Anatomie Pathologique

Anesthésie Réanimation

Chirurgie Générale

Hématologie

Anatomie Pathologique

*Enseignants Militaires

Décembre 2010

Pr. ZNATIKaoutar

Mai 2012

Pr.AMRANIAbdelouahed

Pr.ABOUEWAA Khalil *

Pr. BENCHEBBADriss *

Pr.DRISSIMohamed*

Pr.ELAIAOUMHAMDI Mouna

Pr.ELOUAZZANIHanane *

Pr. ER-RAJIMounir

Pr.JAHIDAhmed

Pr. RAISSOUNIMaha*

Anatomie Pathologique

Chirurgie pédiatrique

Anesthésie Réanimation

Traumatologie-orthopédie

Anesthésie Réanimation

Chirurgie Générale

Pneumophtisiologie

Chirurgie Pédiatrique

Anatomie Pathologique

Cardiologie

Février 2013

Pr. AHIDSamir

Pr. AITELCADIMina

Pr.AMRANIHANCHILaila

Pr.AMORMourad

Pr. AWABAlmahdi

Pr. BEIAYACHIJihane

Pr. BELKHADIR ZakariaHoussain

Pr. BENCHEKROUNLaila

Pr. BENKIRANESouad

Pr. BENNANA Ahmed*

Pr. BENSGHIRMustapha*

Pr. BENYAHIAMohammed*

Pr. BOUATIAMustapha

Pr. BOUABIDAhmedSalim*

PrBOUTARBOUCHMahjouba

Pr.CHAIBAli*

Pr. DENDANETarek

Pr. DININouzha *

Pr. ECH-CHERIFELKEITANIMohamed
Ali

Pr. ECH-CHERIFELKEITANINajwa

Pr. ELFATEMINizare

Pr.ELGUERROUJHasnae

Pr.ELHARTI Jaouad

Pr.ELJAOUDIRachid*

Pr. ELKABABRIMaria

Pr. ELKHANNOUSSIBasma

Pr. ELKHLOUFISamir

Pharmacologie

Toxicologie

Gastro-Entérologie

Anesthésie Réanimation

Anesthésie Réanimation

Réanimation Médicale

Anesthésie Réanimation

Biochimie-Chimie

Hématologie

Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation

Néphrologie

Chimie Analytique et Bromatologie

Traumatologie orthopédie

Anatomie

Cardiologie

Réanimation Médicale

Pédiatrie

Anesthésie Réanimation

Radiologie

Neure-chirurgie

Médecine Nucléaire

Chimie Thérapeutique

Toxicologie

Pédiatrie

Anatomie Pathologique

Anatomie

*Enseignants Militaires

Pr. ELKORAICHIALae
 Pr. EN-NOUALIHassane*
 Pr. ERRGUIGLaila
 Pr. FIKRIMeryem
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANEZineb
 Pr. IRAQIHind
 Pr. KABBAJHakima
 Pr. KADIRIMohamed*
 Pr. LATIBRachida
 Pr. MAAMARMounaFatimaZahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUIAdyl
 Pr. MRABTIHind
 Pr. NEJJARIRachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLIMohamed*
 Pr. RAHALIYounes
 Pr. RATBIllham
 Pr. RAHMANIMounia
 Pr. REDAKarim*
 Pr. REGRAGUIWafa
 Pr. RKAINHanan
 Pr. ROSTOMSamira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAAFedoua *
 PrSALIHOUMouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIKHassan *
 Pr. ZERHOUNIHicham
 Pr. ZINEAli *

Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique Vice-Doyen à la Pharmacie
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

AVRIL 2013

Pr. ELKHATIBMohamedKarim*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

MARS 2014

Pr. ACHIRAbdellah
 Pr. BENCHAKROUNMohammed*
 Pr. BOUCHIKH Mohammed
 Pr. ELKABBAJDriss*
 Pr. ELMACHTANIIDRISSISamira*
 Pr. HARDIZIHouyam

Chirurgie Thoracique
 Traumatologie- Orthopédie
 Chirurgie Thoracique
 Néphrologie
 Biochimie-Chimie
 Histologie-Embryologie-Cytogénétique

*Enseignants Militaires

Pr.HASSANIAmale*
 Pr.HERRAKLaila
 Pr.JANANEAbdellah*
 Pr.JEA.IDIANass*
 Pr.KOUACHJaouad*
 Pr.LEMNOUERAbdelhay*
 Pr.MAKRAMSanaa*
 Pr.OUIAHYANERachid*
 Pr.RHISSASSIMohamedJaafar
 Pr.SEKKACHYoussef*
 Pr.TAZIMOUKHAZakia

Pédiatrie
 Pneumologie
 Urologie
 Hématologie Biologique
 Gynécologie-Obstétrique
 Microbiologie
 Pharmacologie
 Chirurgie Pédiatrique
 CCV
 Médecine Interne
 Gynécologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEMRachid*
 Pr. AITBOUGHIMA Fadila
 Pr.BEKKALIHicham*
 Pr.BENAZZOUSalma
 Pr.BOUABDELIAHMounya
 Pr.BOUCHRIKMourad*
 Pr.DERRAJISoufiane*
 Pr.DOBLALI Taoufik
 Pr.ELAYOUBIELIDRISSAli
 Pr.ELGHADBANE AbdedaimHatim*
 Pr.ELMARJANYMohammed*
 Pr.FEJJALNawfal
 Pr.JAHIDIMohamed*
 Pr.lAKHALZouhair*
 Pr.UDGHIRI Nezha
 Pr.RAMIMohamed
 Pr.SABIR Maria
 Pr.SBAIIDRISSIKarim*

Pédiatrie
 Médecine Légale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Maxillo-Faciale
 Biochimie-Chimie
 Parasitologie
 Pharmacie Clinique
 Microbiologie
 Anatomie
 Anesthésie-Réanimation
 Radiothérapie
 Chirurgie Réparatrice et Plastique
 O.R.L
 Cardiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Pédiatrique
 Psychiatrie
 Médecine préventive, santé publique et Hyg.

AOUT 2015

Pr.MEZIANEMeryem
 Pr.TAHIRILatifa

Dermatologie
 Rhumatologie

PROFESSEURSAGREGES:

JANVIER 2016

Pr.BENKABBOUAmine
 Pr.ELASRIFouad*
 Pr.ERRAMINoureddine*
 Pr. NITASSISophia

Chirurgie Générale
 Ophtalmologie
 O.R.L
 O.R.L

*Enseignants Militaires

JUIN 2017

Pr.ABIRachid*
Pr.ASFALOUHlyasse*
Pr. BOUAYTIELArbi*
Pr.BOUTAYEBSaber
Pr.ELGHISSASSIbrahim
Pr.HAFIDIJawad
Pr.OURAINISaloua*
Pr.RAZINERachid
Pr.ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
O. R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Immunologie

NOVEMBRE 2018

Pr.AMELLALMina
Pr.SOULYKarim
Pr.TAHRIRjae

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

NOVEMBRE 2019

Pr.AATIFTaoufiq*
Pr.ACHBOUKAbdelhafid*
Pr.ANDALOUSSISAGHIRKhalid *
Pr.BABAHABIBMoulayAbdellah*
Pr.BASSIRIDAALLAH
Pr.BOUATTARTARIK
Pr.BOUFETTALMONSEF
Pr.BOUCHENTOUFSidiMohammed*
Pr.BOUZELMATHicham*
Pr.BOUKHRISJalal*
Pr.CHAFRYBouchaib*
Pr.CHAHDIHafsa*
Pr.CHERIFELASRIAbad*
Pr.DAMIRIAMal*
Pr.DOGHMINawfal*
Pr.ELALAOUISidi-Yassir
Pr.ELANNAZHicham*
Pr.ELHASSANIMoulayELMehdi *
Pr.ELHJOUJIAabderrahman*
Pr.ELKAOUIHakim*
Pr.ELWALIAbderrahman*
Pr.EN-NAFAAIssam*
Pr.HAMAMAJalal*
Pr.HEMMAOUIBouchaib*

Néphrologie
ChirurgieRéparatriceetPlastique
Radiothérapie
Gynécologie-obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
ChirurgieGénérale
Cardiologie
Traumatologie-orthopédie
Traumatologie-orthopédie
AnatomiePathologique
Neurochirurgie
AnatomiePathologique
Anesthésie-réanimation
PharmacieGalénique
Virologie
Gynécologie-obstétrique
ChirurgieGénérale
ChirurgieGénérale
Anesthésie-réanimation
Radiologie
StomatologieetChirurgieMaxillo-faciale
O.R.L

*Enseignants Militaires

Pr.HJIRANAoufal*
Pr.JIRAMohamed*
Pr.JNIENEAsmaa
Pr.LARAQUIHicham*
Pr.MAHFOUDTarik*
Pr.MEZIANEMohammed*
Pr.MOUTAKIALLAHYounes*
Pr.MOUZARIYassine*
Pr.NAOUIHafida*
Pr.OBTELMajdouline
Pr.OURRAIAbdelhakim*
Pr.SAOUABRachida*
Pr.SBITTIYassir*
Pr.ZADDOUGOmar*
Pr.ZIDOUHsaad*

Dermatologie
MédecineInterne
Physiologie
ChirurgieGénérale
OncologieMédicale
Anesthésie-réanimation
ChirurgieCardio-vasculaire
Ophtalmologie
Parasitologie-Mycologie
Médecinepréventive,santépubliqueetHyg.
Pédiatrie
Radiologie
OncologieMédicale
TraumatologieOrthopédie
Anesthésie-réanimation

*Enseignants Militaires

2.ENSEIGNANTS-CHERCHEURSSCIENTIFIQUES

PROFEURS/Prs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. AIAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. AIAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr .BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OUIAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. YAGOUBI Maamar	Environnement, Eau et Hygiène
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

Mise à jour le 11/06/2020
Khaled Abdellah
Chef du Service des Ressources Humaines
FMPR

*Enseignants Militaires



Dédicaces

À ma très chère mère YACINE NIANG

Tu as fait beaucoup de sacrifices afin qu'on puisse en arriver là aujourd'hui. Par ton courage et ta persévérance tu es ma référence, mon idole. Tu m'as toujours soutenu et incité à aller de l'avant dans mes études. Merci pour le sacrifice et le dévouement dont tu as toujours fait preuve. J'espère te rendre fier par ce modeste travail. Puisse Dieu te procurer une longue vie, santé, prospérité ma maman.

À ma chère tante Fatou Niang

Ma seconde maman sans toi je n'y serai peut-être jamais arrivée. Merci beaucoup pour tes encouragements, pour ta bonté, le courage que t'as su me transmettre.

Puisse Dieu te préserver et te procurer santé et bonheur.

À mon mari BOUBACAR BAYE FALL DIOP

Chaque jour je remercie dieu de m'avoir mise sur ton chemin. Ta bonté est unique.

*Merci d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Très longue vie à côté de
notre belle et merveilleuse famille.*

*À mes enfants MAMADOU SYLLA, MAME DIARRA DIOP,
GORA DIOP.*

*Vous êtes ma lumière. Mon cœur si petit qu'il soit vous réserve une place si
grande que vous n'y serez jamais à l'étroit. J'espère vous avoir rendu fier.*

À mon oncle MODOU NIANG

Merci pour le soutien que tu m'as toujours apporté. Tu m'as toujours incité à aller de l'avant dans mes études. je te dédie ce travail tout en espérant t'avoir rendu fier. Puisse le Tout Puissant te donner bonne santé et longue vie.

À ma meilleure amie NDEYE DER

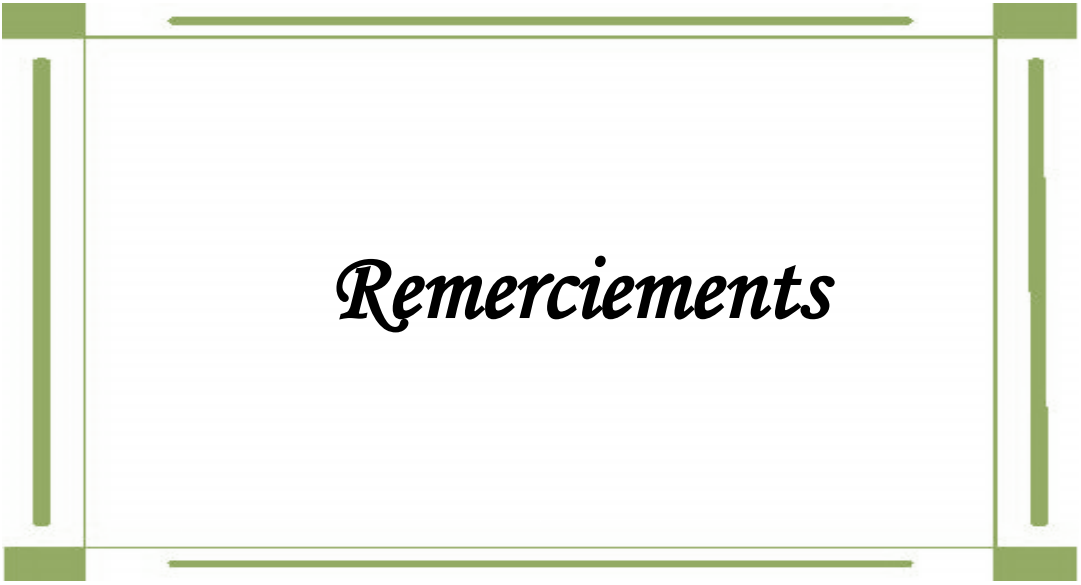
Ma jumelle comme j'aime t'appeler. Je t'aime tellement. Tu as toujours été là pour moi. Malgré la distance notre amitié est restée sincère. Aucun mot ne pourrait témoigner mon amour et ma gratitude.

À mes amies d'enfance

ANGELE, FATOU KASSE, ASSA, MBAYAME, SIMAL merci pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble jamais je ne vous oublierai.

À mes amis de la 29^{ème} promo

MOUSNA, MERCY, MOUNA, JEAN, JOSEPH, DAL, KHADIJA j'oublierai jamais ces années passées ensemble ces moments de fou rire de fatigue de travail intense. Nous voilà aujourd'hui au terme de cette aventure. Nos différences culturelles faisaient notre charme. Amis pour la vie. Belle carrière à nous.



Remerciements

*À Notre Maître et Présidente de Thèse
Madame Mina AIT'EL CADI
Professeure de Toxicologie*

C'est pour nous un grand honneur que vous ayez accepté de présider le jury de cette thèse. La courtoisie et la gentillesse que vous avez manifesté à notre endroit nous a profondément touché. Tout en vous remerciant pour votre disponibilité, permettez-nous cher maitre de vous témoigner notre plus grand respect.

*À Notre Maître et Rapporteur de Thèse
Monsieur Mustapha BOUATIA
Professeur de Chimie Analytique et Bromatologie*

Nous tenons à vous déclarer nos remerciements les plus sincères pour avoir accepté de diriger ce travail et avoir vérifié à son élaboration avec patience et disponibilité.

Votre dévouement au travail, votre modestie et votre gentillesse imposent le respect et représentent le modèle que nous serons toujours heureux de suivre.

Mais au-delà de tous les mots de remerciements que nous vous adressons, nous voudrions louer en vous votre amabilité, votre courtoisie et votre générosité. Ce fut très agréable de travailler avec vous. Puisse ce travail être à la hauteur de la confiance que vous nous avez accordée.

*À Notre Maître et Juge de Thèse
Monsieur le professeur Rachid NEJJARI
Professeur de Pharmacognosie*

*Nous sommes très heureux de l'honneur que vous nous faites en acceptant de
juger notre travail.*

*Nous tenons à vous exprimer notre gratitude pour votre professionnalisme,
votre sympathie et la qualité de l'enseignement dont nous avons eu l'honneur
de bénéficier.*

Soyez assuré de notre haute considération et notre profond respect.

*À Notre Maître et Juge de Thèse
Monsieur Amine Cheikh*

Vous nous faites un immense plaisir en acceptant de juger notre thèse. Qu'il nous soit permis de témoigner à travers ces quelques lignes notre admiration à la valeur de votre compétence.

Que ce travail soit une occasion de vous exprimer notre gratitude, de respect et d'admiration les plus sincères.



Sommaire

Introduction Générale.....	38
Introduction	41
I. Les sources potentielles des impuretés élémentaires	44
1. Impuretés élémentaires potentielles provenant de substances médicamenteuses (dérivées de catalyseurs, réactifs inorganique de synthèse...) :	45
2. Impuretés élémentaires potentielles provenant des excipients	48
3. Impuretés élémentaires provenant d'équipement ou articles de conditionnement	50
II. Classification des impuretés élémentaires	52
1. Classification des impuretés élémentaires selon la directive Q3D de L'ICH.....	52
2. Classification des impuretés élémentaires de l'EMA.....	56
3. Toxicité des impuretés élémentaires et les limites d'exposition journalière admissibles (EJA) :	57
4. Toxicité des impuretés élémentaires	60
5. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) et les concentrations limites autorisées.....	79
5.1. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) et de concentration des impuretés élémentaires de la directive Q3D de l'ICH	80
5.2. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) et de concentration des impuretés élémentaires de l'EMA	82
5.3. Conversion des EJA en concentration limite dans le produit pharmaceutique	83
III. La réglementation de la présence des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques	88
1. L'ICH.....	88
2. La pharmacopée européenne.....	89
3. La pharmacopée américaine (USP)	90
4. La pharmacopée chinoise.....	91
IV. Evaluation des risques et stratégie de contrôle selon l'approche de la directive Q3D de l'ICH.....	92
1. L'évaluation des risques de présence d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques	92

1.1. Reconnaître les sources connues et potentielles d'impuretés élémentaires qui peuvent se retrouver dans un produit pharmaceutique.....	92
1.2. Évaluer la présence d'une impureté élémentaire donnée dans le produit pharmaceutique	94
1.3. Résumer et consigner l'évaluation des risques	96
2. Stratégie de contrôle des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques .	97
V. Les méthodes d'analyse des impuretés élémentaires.....	99
1. Les stratégies de préparation des échantillons	101
1.1. La dissolution directe dans solvants aqueux ou organiques.....	103
1.2. La digestion humide	105
1.2.1. La digestion humide dans des récipients ouverts :	105
1.2.2. La digestion humide dans des récipients fermés	109
1.3. La combustion	111
1.3.1. La méthode des cendres sèches	112
1.3.2. La combustion induite par micro-ondes	114
2. Les méthodes analytiques instrumentales de détermination de la teneur des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutique	117
2.1. Les méthodes analytiques instrumentales basées sur l'ICP :	118
2.1.1. La spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS).....	120
2.1.2. La spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) :	126
2.1.3. La spectrométrie d'absorption atomique (SAA)	128
2.1.4. La spectrométrie d'absorption atomique flamme (F-AAS) :.....	134
2.1.5. Spectrométrie d'absorption atomique par four graphite (GF-AAS) :	134
2.1.6. La spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS).....	136
2.2. La spectrométrie de fluorescence des rayons X (XRFS) :	138
2.2.1. Les spectromètres à dispersion en énergie (EDS)	140
2.2.2. Les spectromètres à dispersion en longueur d'onde (WDS)	140
2.3. Les autres méthodes instrumentales d'analyse des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques.....	142

2.3.1. Les méthodes électrochimiques (ampérométrie, voltamétrie):.....	142
2.3.2. La spectrophotométrie UV/Visible.....	143
2.3.3. L'électrophorèse capillaire	144
2.3.4. L'analyse par activation neutronique instrumentale.....	144
3. La validation analytique des méthodes d'analyse des impuretés élémentaires	146
3.1. Les caractéristiques de performance analytique à évaluer pour la validation analytique d'une méthode d'essai limite des impuretés élémentaires.....	148
3.1.1. La spécificité.....	148
3.1.2. La limite de détection (LOD)	149
3.2. Les caractéristiques de performance analytique à évaluer pour la validation analytique d'une méthode de dosage des impuretés élémentaires :	150
3.2.1. L'exactitude :	150
3.2.2. La précision :	151
3.2.3. La spécificité.....	152
3.2.4. La limite de dosage ou de quantification (LOQ) :	152
Partie pratique.....	154
Introduction	155
I. Matériels et méthode	157
II. Résultats.....	159
III. Discussion.....	175
Conclusion Générale	188
Résumés.....	188
Références bibliographiques	188



Liste des Abréviations

ADN	: Acide DésoxyriboNucléique
BP	: Pharmacopée Britannique
BPF	: Bonnes Pratiques de Fabrication
CPG	: Chromatographie en Phase Gazeuse
CV-AAS	: Spectrométrie d'Absorption Atomique à Vapeur Froide
DJA	: Dose Journalière Acceptable
DMSO	: DiMéthylSulfOxyde
DSS-ETAAS	: Analyse Directe des Solides par Spectrométrie d'Absorption Atomique Electrothermique
ED-XRFS	: Spectrométrie de Fluorescence des Rayons X à dispersion d'énergie
EJA	: Exposition Journalière Admissible
EMA	: European Medicine Evaluation Agency (en français, Agence Européenne d'Évaluation du Médicament)
EP	: Pharmacopée européenne
ETV	: Vaporisation Electrothermique
F-AAS	: Spectrométrie d'Absorption Atomique Flamme
FDA	: Food and Drug Administration (en français, Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux)
GF-AAS	: Spectrométrie d'Absorption Atomique par Four Graphite
HPLC	: Chromatographie Liquide à Haute Performance
ICH	: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (en français, Conseil international d'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain)

ICP	: Inductively Coupled Plasma ou Plasma par couplage inductif
ICP-AES	: Spectrométrie d'Emission Atomique à Plasma à Couplage Inductif
ICP-MS	: Spectroscopie de Masse à Plasma à Couplage Inductif
IRM	: Imagerie Résonance Magnétique
JP	: Pharmacopée Japonaise
LA	: Ablation Laser
LOD	: Limite de Détection
LOQ	: Limite de Quantification
MIC	: Combustion Induite par Micro-ondes
PTFE	: PolyTétraFluoroEthylène
SAA	: Spectrométrie d'Absorption Atomique
SFDA	: Food and Drug Administration of China
THF	: TétraHydroFurane
TXRFS	: Spectrométrie de Fluorescence des Rayons X à réflexion totale
USP	: United States Pharmacopeia (en français, Pharmacopée américaine)
WD-XRFS	: Spectrométrie de Fluorescence des Rayons X à dispersion de longueur d'onde
XRFS	: Spectrométrie de Fluorescence des Rayons X



Liste des Illustrations

Liste des figures :

Figure 1: les différents métaux lourds de préoccupation pharmaceutique.....	42
Figure 2: Sources potentielles d'impuretés élémentaires au cours du processus de fabrication des médicaments et produits pharmaceutiques [6].....	44
Figure 3: Substances actives à base de platine [11]	47
Figure 4: impuretés élémentaires extractibles dans les dispositifs médicaux d'administration de produits pharmaceutiques	51
Figure 5: Classification des impuretés élémentaires de l'ICH [6].....	55
Figure 6: Classification des impuretés élémentaires de l'EMA [140]	56
Figure 7: différentes stratégies de préparation d'échantillons pour l'analyse des impuretés élémentaires [139]	102
Figure 8: Préparation d'échantillons dans l'analyse des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques selon le chapitre général USP "233" [1]	103
Figure 9: les différentes étapes du principe de la méthode de digestion humide en vase ouvert	108
Figure 10: Intérieur d'une micro-onde à digestion acide.....	110
Figure 11: Récipient en PTFE pour digestion acide à haute pression assistée par micro-onde	111
Figure 12: Four à moufle pour la combustion des échantillons	113
Figure 13: creuset en porcelaine.....	114
Figure 14: appareillage simplifié d'un système de combustion induite par micro-ondes	115
Figure 15: Procédure de granulation des échantillons solides pour une digestion ultérieure par combustion induite par micro-ondes [39]	116
Figure 16: schéma simplifié du principe de génération d'un plasma par courant direct (DCP)	118
Figure 17: schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma micro-onde induit (MIP)	119
Figure 18: schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma à couplage inductif ...	120

Figure 19: Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse quadripolaire couplé à l'ICP	122
Figure 20: Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse à secteur magnétique [46]	122
Figure 21: Schéma du principe de fonctionnement de l'ICP-MS quadripolaire	124
Figure 22: Schéma de l'appareillage d'un ICP-AES.....	127
Figure 23: Schéma de l'instrumentation de base d'une spectrométrie d'absorption atomique à flamme.....	129
Figure 24: Les différents composants d'une lampe à cathode creuse (l'exemple d'une lampe de Cd).....	130
Figure 25: Absorption d'un photon	132
Figure 26: Schéma simplifié d'un four graphite	135
Figure 27: Schéma du principe de l'analyse du mercure par génération de vapeur froide par CV-AAS.....	137
Figure 28: Schéma simplifié d'un spectromètre de fluorescence à rayons X à dispersion en énergie (XRFS)	139
Figure 29: Schéma simplifié d'un spectromètre à dispersion en longueur d'onde (WDS) ...	141
Figure 30:Articles publiés de 2000 à 2019 concernant l'utilisation de méthodes basées sur le plasma à couplage inductif (ICP) et les autres méthodes analytiques alternatives pour la détermination des impuretés élémentaires d'éléments dans les médicaments.....	160
Figure 31: fréquence d'utilisation des différentes méthodes d'analyse alternatives dans les articles recensés.....	161
Figure 32: Utilisation des différentes techniques analytiques dans la détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques entre 2000 et 2019	162
Figure 33:Articles publiés de 2005 à 2015 concernant l'utilisation de méthodes basées sur l'ICP et les méthodes SAA pour la détermination des impuretés élémentaires dans les médicaments tirée de la revue de l'article de J.S Barin et al. [139].....	179
Figure 34: Utilisation des techniques de spectrométrie atomique dans la détection des impuretés élémentaires dans les médicaments entre 1995 et 2005 [2]	187

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Masse journalière totale en µg d'impuretés dérivées d'excipients contenus dans un médicament à administration orale hypothétique, administré sous forme de dose quotidienne de deux comprimés de 50mg [15].	49
Tableau 2 : Concentrations des impuretés élémentaires de classe 1 dans quelques excipients testés [16]	50
Tableau 3 : Risque associé aux impuretés élémentaire de classe 1[4]	58
Tableau 4 : Profil toxicologiques de quelques impuretés élémentaires et leurs différentes formes d'oxydation	61
Tableau 5 :Expositions journalières admissibles et les concentrations maximales autorisées pour les impuretés élémentaires selon la directive Q3D de l'ICH [6]	81
Tableau 6 : Expositions journalières admissibles et les concentrations maximales autorisées pour les impuretés élémentaires selon l'EMA [140]	82
Tableau 7 : Éléments à prendre en compte dans l'évaluation des risques [6]	95
Tableau 8 : Propriétés des solutions acides les plus utilisés en digestion humide des échantillons pour la détermination des impuretés élémentaires [31]	106
Tableau 9 : Tableau comparatif entre l'ICP-MS, l'ICP-AES, la F-AAS et la GF-AAS	146
Tableau 10 : Les caractéristiques à valider pour une méthode dosage ou pour un essai limite des impuretés élémentaires selon l'ICH Q2(R1)	148
Tableau 11: Articles publiés entre janvier 2000 et décembre 2019 concernant la détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques par des méthodes instrumentales.	163
Tableau 12 : tableau comparatif simplifié des limites de détection obtenues avec les différentes techniques analytiques	171
Tableau 13 : tableau comparatif des LODs obtenues avec l'ICP-MS et l'ICP-AES tiré de la revue de Pohl et al. [1]	181



Introduction Générale

La sécurité, l'efficacité et la qualité des produits pharmaceutiques sont les caractéristiques fondamentales et très importantes en pharmacothérapie. L'innocuité d'un médicament est déterminée par son profil pharmacologique et toxicologique, ainsi que par les effets indésirables émanant d'une part de la substance médicamenteuse et d'autre part des impuretés présentes dans la préparation médicamenteuse. Les impuretés des substances pharmaceutiques peuvent être classées en trois groupes; Impuretés organiques, solvants résiduels et impuretés inorganiques. Elles présentent souvent des effets pharmacologiques et toxicologiques indésirables qui peuvent aller à l'encontre des effets bénéfiques attendus de l'administration du médicament. De ce fait, la surveillance et le contrôle des impuretés participent à l'assurance de la qualité et de la sécurité d'un médicament.

Les impuretés inorganiques communément appelées « impuretés élémentaires » sont des éléments chimiques, appartenant à la classe des métaux lourds et métalloïdes, intentionnellement ajoutées ou pas dans le procédé de fabrication des médicaments. Les impuretés élémentaires ajoutées intentionnellement doivent être prises en compte pour l'évaluation des risques. Elles sont généralement connues, le contrôle et l'analyse de ces impuretés sont faciles à définir. Celles qui ne sont pas ajoutées intentionnellement doivent être prises en compte en fonction de la voie d'administration et de la classe de l'impureté.

La détermination des impuretés élémentaires dans les substances actives, les excipients, les articles de conditionnement et les médicaments à différents stades de leur fabrication est justifiée et nécessaire car fait partie intégrante des paramètres pouvant définir la qualité d'un médicament. En tant qu'impuretés inorganiques, les métaux sont l'un des trois types d'impuretés (impuretés organiques, inorganiques et solvants résiduels) qui doivent être contrôlés dans les médicaments et leurs matières premières et, par extension, dans certains aliments et compléments alimentaires. Concernant la détermination des impuretés élémentaire, les pharmacopées européennes et américaine recommandaient un «essai limite des métaux lourds» basé sur des méthodes analytiques chimiques et colorimétriques, tels que ceux décrits dans le chapitre 2.4.8 de la pharmacopée européenne et le chapitre général « 231 » de l'USP. Cependant, la difficulté à obtenir des résultats fiables et reproductibles à partir des méthodes colorimétriques a conduit au développement de nouvelles procédures

suffisamment sélectives et sensibles. Ainsi, les tests chimiques et colorimétriques ont été remplacés par des méthodes instrumentales permettant de mesurer de manière spécifique et quantitative chaque impureté élémentaire.

Après avoir détaillé les sources potentielles des impuretés élémentaires et leur classification en différentes groupes ou classes, la toxicité des impuretés élémentaires ainsi que la réglementation de leur présence dans les produits pharmaceutiques seront abordées dans la première partie de cette thèse intitulée *partie bibliographique*. Toujours dans cette même partie bibliographique, l'évaluation des risques et la stratégie de contrôle selon l'approche de la directive Q3D de l'ICH ainsi que les différentes méthodes d'analyse instrumentales des impuretés élémentaires seront également décrites.

La seconde partie, intitulée *partie pratique*, abordera la revue systématique de la littérature réalisée sur les articles qui ont développé une méthode analytique instrumentale pour évaluer les niveaux des impuretés élémentaires dans les médicaments, publiés entre janvier 2000 et décembre 2019. Cette revue a concerné 74 articles. Pour chaque article, la méthode analytique employée, la nature et le mode de préparation des échantillons à analyser, les impuretés élémentaires investiguées et les produits pharmaceutiques analysés ont été répertoriés.

Introduction

La sécurité et l'efficacité des produits pharmaceutiques sont deux caractéristiques fondamentales et très importantes en pharmacothérapie. L'innocuité d'un médicament est déterminée par son profil pharmacologique et toxicologique, ainsi que par les effets indésirables émanant d'une part de la substance médicamenteuse et d'autre part des impuretés présentes dans la préparation médicamenteuse. Les impuretés contenues dans les médicaments présentent souvent des effets pharmacologiques et toxicologiques indésirables qui peuvent aller à l'encontre des effets bénéfiques attendus de l'administration du médicament [2]. Ainsi, la surveillance et le contrôle des impuretés participent généralement à l'assurance de la qualité et de la sécurité d'un médicament. Les activités analytiques concernant les impuretés dans les produits pharmaceutiques font partie des exigences en matière de contrôle qualité des médicaments [3].

Parmi les impuretés rencontrées dans les produits pharmaceutiques, on a :

- les impuretés organiques
- les impuretés inorganiques, minérales ou encore appelées impuretés élémentaires
- les solvants résiduels ou impuretés organiques volatiles

Les impuretés élémentaires sont des éléments chimiques, de la classe des métaux lourds et métalloïdes, ajoutés intentionnellement ou non dans le procédé de fabrication des médicaments et qui se retrouvent dans le produit fini à des quantités supérieures au seuil de contrôle. Les métaux lourds de préoccupation pharmaceutique qui doivent être pris en compte dans le processus d'évaluation des risques et de contrôle des impuretés élémentaires proposé dans la ligne directrice de l'ICH Q3D sont au nombre de 24 éléments. Ces éléments sont colorés en jaune dans le tableau périodique des éléments chimiques de la figure 1.

médicaments à aucune des étapes du processus de fabrication en dehors du seuil toléré. La Pharmacopée Européenne (EP) a proposé une limite de 20 µg/g de Pt dans le folinate de calcium. La pharmacopée américaine (USP), la pharmacopée britannique (BP), la pharmacopée européenne (EP) et la pharmacopée japonaise (JP) proposent un contrôle collectif de la teneur totale en métaux des produits pharmaceutiques.

Mais aussi, la directive Q3D de la Conférence Internationale sur l'Harmonisation des exigences techniques en matière d'enregistrement des produits pharmaceutiques à usage humain (ICH) propose un processus d'évaluation et de contrôle des impuretés élémentaires présentes dans les produits pharmaceutiques au moyen des principes de gestion des risques décrits dans la présente directive. Ce processus offre une plateforme pour l'élaboration d'une stratégie de contrôle axée sur les risques visant à limiter la présence d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques.

I. Les sources potentielles des impuretés élémentaires

Les impuretés élémentaires peuvent provenir de différentes sources et peuvent se retrouver dans le produit pharmaceutique à différentes phases de son développement. Lorsque l'on examine la production de produits pharmaceutiques, on observe des catégories larges de sources potentielles d'impuretés élémentaires (figure 1) :

- Les impuretés résiduelles découlant d'éléments intentionnellement ajoutés (p. ex., des catalyseurs) dans la formation de la substance pharmaceutique ;
- Les impuretés élémentaires qui ne sont pas intentionnellement ajoutées et qui peuvent être présentes dans la substance pharmaceutique, l'eau ou les excipients utilisés dans la préparation du produit pharmaceutique ;
- Les impuretés élémentaires qui peuvent être introduites dans la substance ou le produit pharmaceutique par l'équipement de fabrication ;
- les impuretés élémentaires qui peuvent s'infiltrer dans la substance et le produit pharmaceutique à partir du contenant et dispositif de fermeture [6].

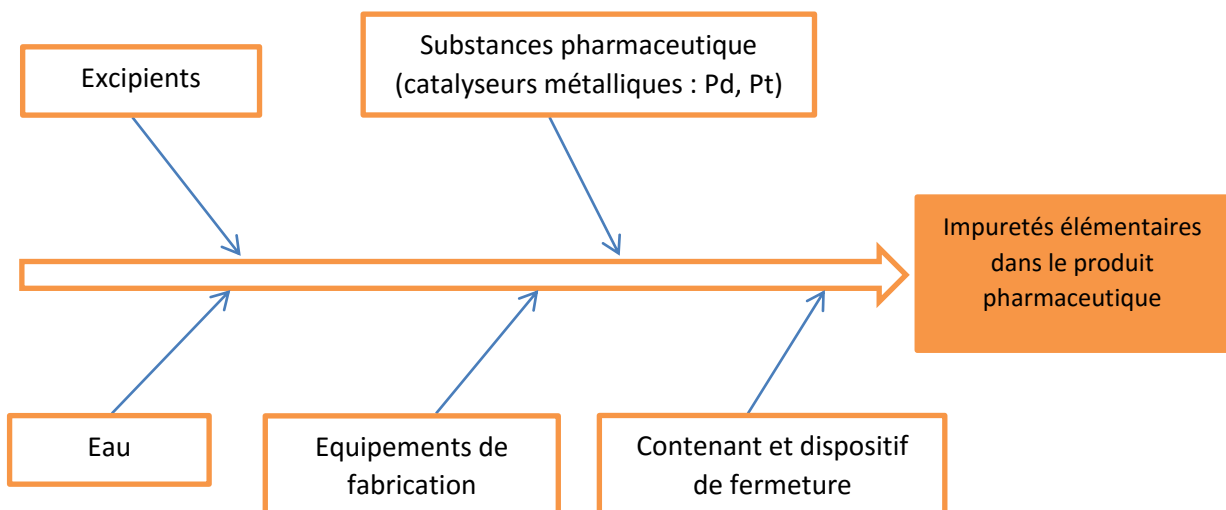


Figure 2: Sources potentielles d'impuretés élémentaires au cours du processus de fabrication des médicaments et produits pharmaceutiques [6]

1. Impuretés élémentaires potentielles provenant de substances médicamenteuses (dérivées de catalyseurs, réactifs inorganique de synthèse...) :

Les impuretés élémentaires contenues dans les substances ou produits pharmaceutiques, peuvent provenir de différentes sources telles que les catalyseurs métalliques ou les réactifs inorganiques utilisés lors de la synthèse d'une substance pharmaceutique active. Mais, elles peuvent être utilisées intentionnellement comme des médicaments à part entière.

Les métaux ont été utilisés comme médicaments à travers les âges. En 1820, la première pharmacopée des États-Unis d'Amérique fournissait une liste de médicaments à base de métaux, notamment l'acide arsénieux (arsenic blanc), l'antimoine, le bismuth, le cuivre (sous divers sels, y compris sulfate de cuivre ou «vitriol bleu»), fer, mercure, plomb (sous divers sels, y compris sous-carbonate de plomb ou «plomb blanc»), étain, argent, or et zinc [7]. En 1941, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1^{ère} édition, faisait état de l'utilisation d'arsenic, d'antimoine, de mercure, de bismuth, de zinc, de cuivre, d'argent, d'or, de chrome, de fer, de magnésium et de sélénium, tous ayant des indications thérapeutiques désignées pour diverses maladies [8]. A l'heure actuelle, les métaux approuvés à des fins thérapeutiques aux États-Unis sont l'aluminium, l'arsenic, le bismuth, le cuivre, le fer, le lithium, le manganèse, le magnésium et le sélénium [9]. Ainsi, certains des impuretés élémentaires peuvent également être rencontrés en tant que principes actifs des médicaments pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. En fait, certains ingrédients pharmaceutiques actifs incorporent des métaux et des métalloïdes de par leur conception. Ceux-ci incluent :

- Des antimicrobiens contenant du fer, de l'argent et de l'or ;
- Des agents d'imagerie utilisant du baryum ;
- Des médicaments au lithium pour le traitement de maladies psychotiques ;
- Des agents de chimiothérapie à base de platine. Par exemple, les composés du platine; Le cisplatine, le carboplatine et l'oxaliplatine sont largement utilisés dans le traitement du cancer et le potentiel des composés du ruthénium est également à l'étude.

- L'aluminium est utilisé dans les antiacides,
- Le zinc fait partie des suspensions d'insuline et
- Le fer est utilisé pour le traitement ou la prévention de l'anémie.

Parfois, les applications médicales utilisent un simple sel du métal lui-même, comme dans le cas de l'utilisation thérapeutique du lithium dans les troubles bipolaires. Cependant, le nombre de médicaments à base de métaux est en augmentation constante. Ceux-ci comprennent les médicaments anticancéreux au platine (utilisés en tant que composants de près de 50% de tous les traitements anticancéreux), les complexes de gadolinium [utilisés comme agents de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM), avec environ 20 millions de doses administrées par an et les radio-pharmaceutiques à base de ^{99m}-technétium (utilisée dans environ 20 millions de procédures de radiodiagnostic chaque année) [10].

L'utilisation la plus connue des métaux lourds en tant que médicament est celle des composés de platine (Pt) contre le cancer [11]. Cependant, seuls quelques-uns des milliers de complexes de platine évalués ont été utilisés en clinique. Outre le cisplatine, ils comprennent le carboplatine et l'oxaliplatine, qui sont homologués dans le monde entier pour un usage clinique, et trois autres médicaments, le nédaplatine, le lobaplatine et l'heptaplatine, uniquement utilisés respectivement au Japon, en Chine et en Corée du Sud (figure 2) [11].

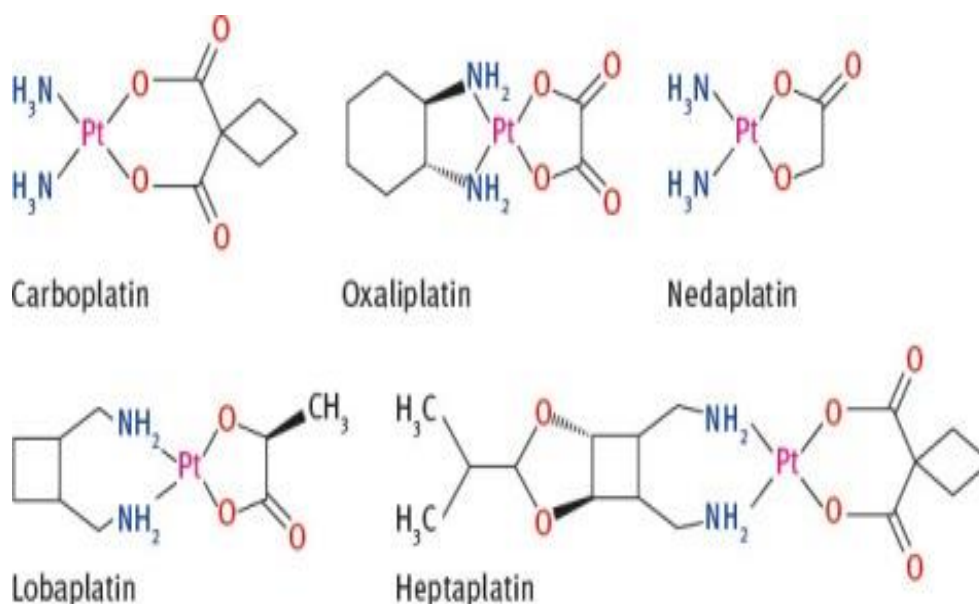


Figure 3: Substances actives à base de platine [11]

Actuellement, les métaux lourds dits des « terres rares » commencent à trouver des applications pharmaceutiques. Par exemple, le gadolinium (Gd) a été utilisé sous la forme chélatée comme agent de contraste dans les mesures d'imagerie par résonance magnétique (IRM) [12], mais de nouvelles recherches ont mis en évidence des dépôts directs de gadolinium dans les tissus neuronaux pouvant être nocifs pour les patients [13].

A l'instar des métaux utilisés comme des médicaments, les métaux sont utilisés aussi comme catalyseur lors des réactions de synthèse des substances médicamenteuses. C'est ainsi, que les métaux tels que le Pt et le Pd sont d'excellents catalyseurs et sont donc largement utilisés dans la synthèse de médicaments. À ce titre, ils peuvent être potentiellement présents dans le produit fini en tant que résidus de catalyseur. D'où la nécessité de disposer de méthodes analytiques instrumentales sensibles et sélectives pour la détermination des traces de métaux lourds (Pd, Pt, Rh) utilisés comme catalyseurs, lors de la synthèse de substances pharmaceutiques pour répondre aux exigences de qualité.

2. Impuretés élémentaires potentielles provenant des excipients

Les excipients utilisés pour la formulation d'un médicament peuvent être des sources non négligeables d'apport d'impuretés élémentaires pour le médicament. Comme presque la totalité des substances médicamenteuses nécessite des excipients afin de devenir un médicament, une connaissance sur les impuretés élémentaires contenues dans ces excipients s'avère utile pour le contrôle qualité des médicaments.

En 2012, la Food and Drug Administration of China (SFDA) a suspendu la commercialisation de toutes les capsules de médicaments produites dans ce pays après avoir trouvé des concentrations excessivement élevées de Cr dans 13 types de capsules commercialisés dans la province de Zhejiang et de 28 autres provinces. Plus loin les enquêtes de la SFDA ont révélé que les niveaux élevés de Cr étaient tous liés à l'utilisation de gélatine industrielle contaminée pour produire les capsules de médicaments. Après ces épisodes, la SFDA a fermé des usines dans tout le pays et a établi des réglementations plus restrictives pour la production de médicaments et d'autres produits pharmaceutiques [14].

Plusieurs articles se sont intéressés à l'évaluation des niveaux d'impuretés élémentaires dans les excipients pharmaceutiques. L'article intitulé « An Elemental Impurities Excipient Database: A Viable Tool for ICH Q3D Drug Product Risk Assessment » est issu de l'exploitation d'une base de données servant à rassembler les résultats d'études analytiques sur les niveaux d'impuretés élémentaires dans les excipients pharmaceutiques créée par un consortium de sociétés pharmaceutiques [15]. Cette base de données rassemble actuellement les résultats de 26723 déterminations d'impuretés élémentaires pour 201 excipients. Elle fournit aussi un exemple de calcul illustrant la contribution des impuretés élémentaires contenues dans les excipients à la concentration globale d'un médicament (tableau 1). Les données confirment les conclusions des études antérieurement menées selon lesquelles les concentrations d'impuretés élémentaires dans les excipients sont généralement faibles.

Tableau 1 : Masse journalière totale en µg d'impuretés dérivées d'excipients contenus dans un médicament à administration orale hypothétique, administré sous forme de dose quotidienne de deux comprimés de 50mg [15].

Excipient	apport journalier (g)	Concentration maximale (µg/g)						Masse journalière totale d'impureté (µg)					
		Cd	Pb	As	Hg	Co	V	Cd	Pb	As	Hg	Co	V
Microcrystalline cellulose	0.18	0.2	0.2	1	0.9	1.5	3	0.036	0.036	0.18	0.16	0.27	0.54
Calcium hydrogen phosphate dihydrate	0.92	0.2	0.27	1	0.2	0.6	10	0.18	0.25	0.92	0.18	0.55	9.2
Magnesium stearate	0.006	0.2	0.2	1	0.9	1.5	3	0.002	0.001	0.006	0.005	0.009	0.018
Croscarmellose sodium	0.6	0.16	0.16	0.45	0.9	1.5	3	0.09	0.096	0.27	0.54	0.9	1.8
Talc	0.114	0.01	0.22	0.61	0.01	1.2	0.04	0.001	0.026	0.06	0.001	0.13	0.0052
Hypromellose	0.08	0.16	0.16	0.45	0.9	1.5	3	0.01	0.013	0.03	0.072	0.12	0.24

L'article intitulé « Elemental Impurities in Pharmaceutical Excipients » résume une étude récente sur les niveaux d'impuretés élémentaires dans les excipients. Une procédure analytique utilisant la digestion assistée par micro-ondes des échantillons et la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif a été utilisé pour l'étude de 190 échantillons de 31 excipients différents [16]. Les résultats de l'étude indiquent que, pour les excipients évalués, des taux relativement faibles d'impuretés élémentaires sont présents. Un aperçu des résultats obtenus est donné dans le tableau 2.

Tableau 2 : Concentrations des impuretés élémentaires de classe 1 dans quelques excipients testés [16]

Excipient	Cd (ppm)	Pb (ppm)	As (ppm)	Hg (ppm)
Talc	0	0.19 ± 0.06	0.17 ± 0.05	0.01 ± 0.01
Dioxyde de titane	0.04 ± 0.02	2.15 ± 1.81	0.08 ± 0.13	0.01 ± 0.02
Phosphate de calcium	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.24 ± 0.18	0
Carbonate de calcium	0.77 ± 0.10	0.18 ± 0.59	0.04 ± 0.04	0
Alginate de sodium	0.01 ± 0.01	0.42 ± 0.30	0.42 ± 0.20	0
Povidone	0	0	0	<LOD
Carboxymethylcellulose	0	0.09 ± 0.27	0	<LOD
Hydroxypropylcellulose	0	0	<LOD	<LOD
Stéarate de zinc	0.31	1.05	<LOD	<LOD
Hypromellose	0	0	<LOD	<LOD

3. Impuretés élémentaires provenant d'équipement ou articles de conditionnement

Au cours de leur fabrication, de leur stockage et de leur administration, les produits pharmaceutiques entrent en contact avec des systèmes conçus pour faciliter ces différentes opérations. Par exemple, le produit médicamenteux peut entrer en contact avec des équipements présents dans la ligne de fabrication (réservoir de mélangeur, filtre, etc.). Après fabrication, mais avant utilisation, le produit médicamenteux est stocké dans un système d'emballage (conditionnement). Enfin, le médicament peut être administré pendant son

utilisation via un dispositif médical. Bien qu'il soit vrai que ces systèmes de fabrication, de conditionnement et d'administration du produit pharmaceutique sont construits avec des matériaux et par des processus qui cherchent à minimiser les risques d'interactions contenant-contenu, malheureusement, il n'existe ni matériaux ni systèmes vraiment inertes, et une migration d'entités chimiques hors du matériau vers le produit pharmaceutique peut se produire [17]. Ces entités chimiques sont le plus souvent des métaux lourds. L'utilisation d'équipements de fabrication, de conditionnement et d'administration (figure 4) inadéquats pourrait entraîner l'incorporation d'impuretés élémentaires dans le produit pharmaceutiques par des mécanismes de corrosion, d'extraction, de lessivage ou de délaminage des entités chimiques se trouvant à la surface de ces équipement. Les articles de conditionnement renfermant des substances extractibles sont concernés par le même problème. Ainsi, on note le cas en cas de contamination par l'aluminium provenant d'articles de conditionnement en verre [18], de zinc provenant des matières plastiques [19], ainsi que par l'aluminium, l'arsenic et le tungstène provenant de systèmes de fermeture de récipients pour seringues de verre [20].

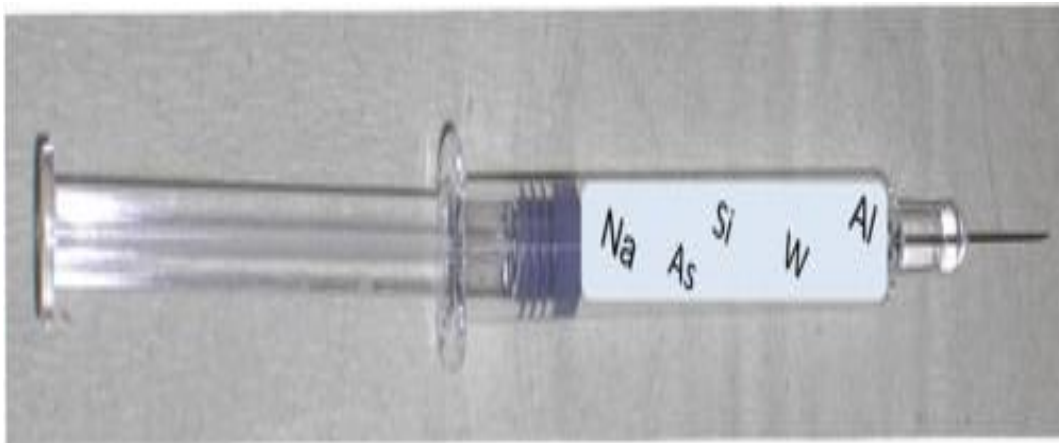


Figure 4: impuretés élémentaires extractibles dans les dispositifs médicaux d'administration de produits pharmaceutiques

L'existence d'interaction contenant-contenu pouvant introduire des impuretés élémentaires est préoccupante car difficile à déterminer. Cependant, il est à la fois nécessaire et obligatoire de déterminer l'étendue d'une telle interaction et de prouver que l'impact de l'interaction se situe dans une limite acceptable, en raison de l'impact que ces substances pourraient avoir sur la sécurité d'utilisation du produit médicamenteux fini.

II. Classification des impuretés élémentaires

La catégorisation ou la classification des impuretés élémentaires peut être très utile pour permettre une évaluation plus rapide et plus simple des éléments ayant des propriétés communes. Le terme métaux lourds a été largement utilisé, mais à tort, dans la littérature pour désigner les impuretés élémentaires. La plupart des pharmacopées indiquent que les métaux lourds sont des impuretés métalliques colorées par un ion sulfure, dans les conditions de test spécifiées [USP 231]. En outre, il est indiqué que les éléments qui répondent généralement au test limite sont l'argent, l'arsenic, le bismuth, le cadmium, le cuivre, le mercure, le molybdène, le plomb, l'antimoine et l'étain. Toutefois, certains éléments présentant un intérêt toxicologique ne sont pas couverts, tels que les éléments du groupe du platine qui sont couramment utilisés comme catalyseurs pour la synthèse de composés pharmaceutiques. Le terme impuretés inorganiques pourrait être utilisé, mais il exclut les espèces organiques d'éléments, qui pourraient être plus toxiques que les inorganiques.

L'ICH et l'USP ont proposé une classification des impuretés élémentaires en fonction de leur toxicité et de la probabilité de leur présence dans les produits pharmaceutiques. L'EMA a proposé une classification des impuretés élémentaires en fonction de leur toxicité.

1. Classification des impuretés élémentaires selon la directive Q3D de L'ICH

L'ICH dans sa directive Q3D a réparti les différentes impuretés élémentaires en trois groupes (figure 5) en fonction de leur toxicité et de la probabilité de leur présence dans les produits pharmaceutiques. La probabilité de la présence est établie à partir de plusieurs facteurs, notamment la probabilité de l'utilisation dans les

procédés pharmaceutiques, la probabilité d'être une impureté co-isolée en compagnie d'autres impuretés élémentaires dans les substances utilisées dans les procédés pharmaceutiques, ainsi que l'abondance naturelle observée et la distribution de l'élément dans l'environnement.

Les différents groupes sont :

- **Groupe 1** : Les éléments de ce groupe sont As, Cd, Hg et Pb. Ce sont des substances toxiques pour l'homme dont l'utilisation dans la fabrication des produits pharmaceutiques est limitée ou nulle. Leur présence dans les produits pharmaceutiques provient généralement de substances couramment utilisées (par exemple, les excipients provenant de l'extraction minière). En raison de la nature unique de ces quatre éléments, toutes les sources potentielles d'impuretés élémentaires et toutes les voies d'administration doivent être évaluées pour les détecter au cours de l'évaluation des risques.

- **Groupe 2** : Les éléments de ce groupe sont généralement considérés comme étant des substances toxiques pour l'homme qui dépendent de la voie d'administration. Les éléments du groupe 2 sont eux-mêmes répartis en sous-groupes 2A et 2B en fonction de la probabilité relative de leur présence dans les produits pharmaceutiques.

- Les éléments du **groupe 2A** ont une probabilité relativement élevée d'être présents dans les produits pharmaceutiques ; par conséquent, l'évaluation des risques doit être effectuée pour toutes les sources d'impuretés élémentaires potentielles et toutes les voies d'administration. Les éléments qui appartiennent au groupe 2A sont les éléments Co, Ni et V.
- Les éléments du **groupe 2B** affichent une probabilité réduite d'être présents dans les produits pharmaceutiques par rapport à leur faible abondance et à leur faible potentiel d'être co-isolés en compagnie d'autres substances. Par conséquent, on peut les exclure de l'évaluation des risques, à moins qu'ils ne soient intentionnellement ajoutés au cours de la fabrication des substances pharmaceutiques, des excipients ou d'autres composants

des produits pharmaceutiques. Les impuretés élémentaires du groupe 2B comprennent les éléments Ag, Au, Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Se et Tl.

• **Groupe 3** : Les éléments de ce groupe affichent des toxicités relativement faibles par la voie d'administration orale, mais il faut en tenir compte dans l'évaluation des risques pour l'administration par inhalation et par voie parentérale.. Les éléments Ba, Cr, Cu, Li, Mo, Sb et Sn font partie de ce groupe.

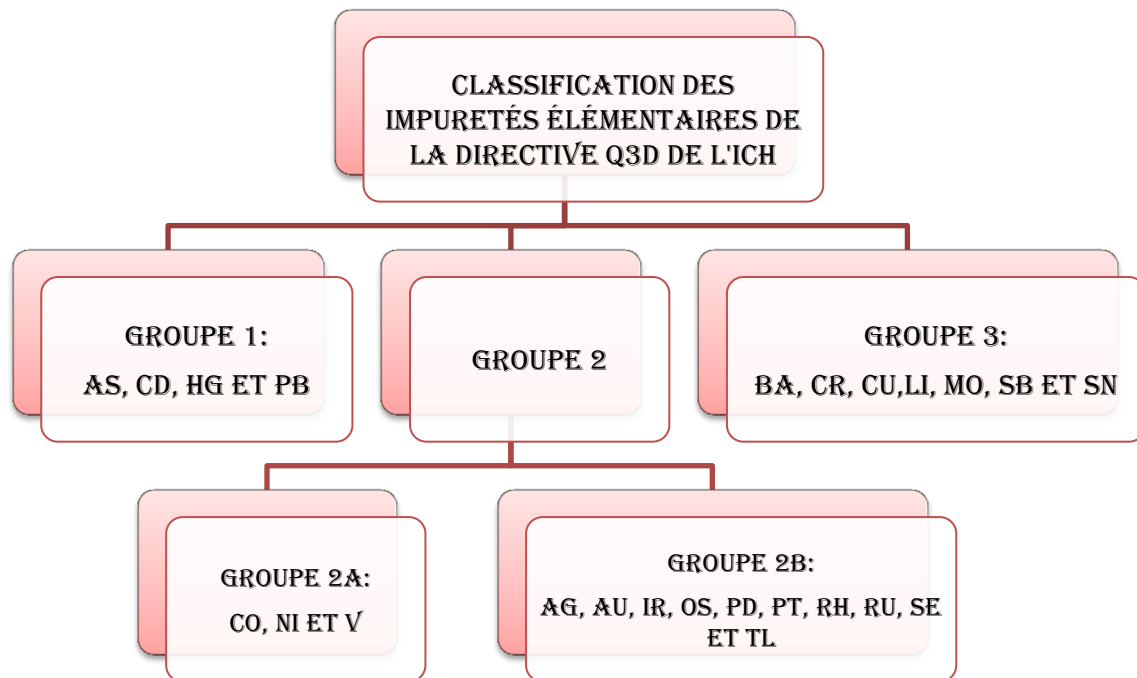


Figure 5: Classification des impuretés élémentaires de l'ICH [6]

2. Classification des impuretés élémentaires de l'EMA

Comme schématisé au niveau de la figure 6, les impuretés élémentaires sont classées en trois classes selon la directive de l'EMA. Les métaux présentant des toxicités importantes pouvant être cancérogènes pour l'homme sont placés dans la classe 1. La classe 1 est subdivisée en trois sous-classes appelées classes 1A, 1B et 1C. Le platine et le palladium relèvent de la classe 1A. Les éléments Ir, Os, Rh et Ru sont placés dans la classe 1B. Les éléments de la classe 1C sont Mo, Ni, Cr et V. Les métaux à faible risque pour la sécurité des patients sont placés dans la classe 2 et comprennent le Cu et le Mn. La classe 3 comprend les métaux sans toxicité significative, les éléments entrant dans cette catégorie sont le Fe et le Zn.

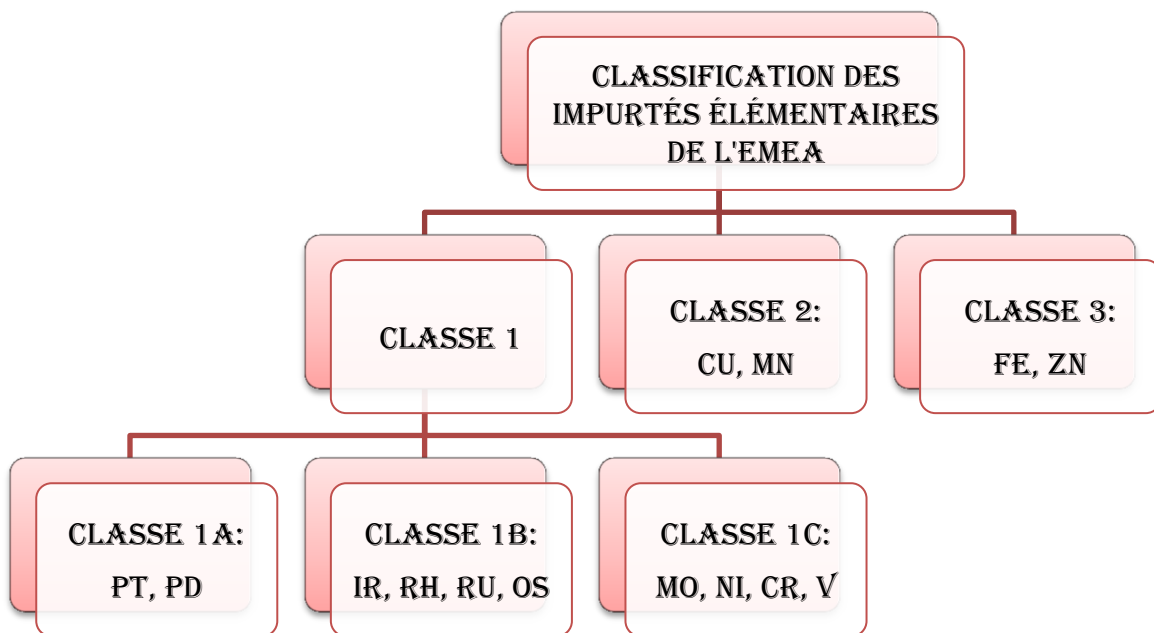


Figure 6: Classification des impuretés élémentaires de l'EMA [140]

3. Toxicité des impuretés élémentaires et les limites d'exposition journalière admissibles (EJA) :

Les impuretés élémentaires sont des métaux lourds qui ont un fort impact toxicologique au-delà de la limite d'exposition autorisée. L'impact sur la santé des métaux lourds dépend de leur espèce chimique, de leur concentration, de leur biodisponibilité et de leur passage dans les chaînes alimentaires. Certains éléments n'ont aucun rôle dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme et sont directement toxiques, comme le Hg, le Pb ou le Cd, d'autres sont indispensables (appelés oligo-éléments) comme le Se ou le Fe. Enfin, certains sont neutres et considérés comme biocompatibles avec l'organisme, et sont ainsi utilisés en médecine, comme le Ti et l'Au par exemple. Les métaux toxiques sont nombreux. Certains le sont à des concentrations élevées comme le Cu, le Mo, le Sn. D'autres le sont à des concentrations relativement faibles comme l'As, le Pb, le Hg, le Cd. Ces derniers sont les plus concernés par les études de toxicité. Au niveau du tableau 3, on a relevé quelques problèmes sanitaires liés à l'exposition de ces quatre impuretés élémentaires. Le plomb est connu pour induire des problèmes rénales, diminuer le développement cognitif, augmenter la tension artérielle. Le mercure organique est plus toxique que la forme inorganique car il est plus facilement absorbé par ingestion; il est très nocif pour le développement du fœtus et de l'enfant. Cependant, une exposition élevée au mercure organique et inorganique peut provoquer des troubles neurologiques, y compris des convulsions et même la mort. Un apport excessif de cadmium affecte principalement les reins et dans une moindre mesure le système reproducteur, tandis que l'arsenic est connu pour provoquer le cancer, une altération du système reproducteur et de l'athérosclérose [21].

Un certain nombre de bases de données fournissent des informations sur la toxicité des métaux lourds sur la base de données cliniques animales et humaines. En plus de la littérature scientifique publiée, ces bases de données comprennent :

- ATSDR: Agence américaine des substances toxiques et du registre des maladies (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>
- US EPA: Agence américaine de l'environnement (United States Environmental Protection Agency) : base de données IRIS (Integrated Risk Information System) <http://www.epa.gov/iris/>

- IARC – CIRC : International Agency for Research on Cancer, World Health Organization – Centre international de recherche sur le cancer, Organisation Mondiale de la Santé
- <http://www.iarc.fr/> Fiches toxicologiques INERIS: <http://www.ineris.fr/>

Les types de toxicité considérés comprennent les effets aigus, subchroniques et chroniques.

Les principales préoccupations sont liées à la neurotoxicité, la néphrotoxicité, la toxicité hépatique, les effets cardiovasculaires, la toxicité sur la reproduction, la toxicité neurologique, l'immunotoxicité et la cancérogénicité.

Tableau 3 : Risque associé aux impuretés élémentaire de classe 1[4]

Impureté	Toxicité
Arsenic (As)	Les formes inorganiques d'arsenic sont particulièrement toxiques et l'arsenic inorganique soluble dans l'eau est facilement absorbé par le système digestif humain. Les symptômes comprennent une irritation de l'estomac et des intestins et des troubles cutanés, une irritation des poumons et une diminution de la production de globules blancs et rouges. Une exposition très élevée à l'arsenic inorganique peut provoquer l'infertilité, des troubles cutanés, une diminution de la résistance aux infections, des troubles cardiaques, des lésions cérébrales et la mort. Les valeurs de DL50 orale aiguë varient de 10 à 300 mg / kg.
Cadmium (Cd)	Le cadmium est plus facilement absorbé par les poumons que par le système digestif humain. L'exposition au cadmium peut endommager les reins, le système nerveux central et le système immunitaire, ainsi que provoquer des fractures osseuses et des problèmes de reproduction. Les symptômes peuvent inclure des maux d'estomac, de la diarrhée et des vomissements. Les valeurs de DL50 par voie orale chez les animaux varient de 63 à 1125 mg / kg.

Plomb (Pb)	L'exposition au plomb peut se produire par ingestion et inhalation. Aucun seuil clair n'a été établi pour le plomb; cependant, l'USP reporte au niveau maximum autorisé par la FDA pour le plomb dans l'eau en bouteille (5 µg / L) pour fixer la limite des impuretés élémentaires. Le plomb peut provoquer: perturbation de la biosynthèse de l'hémoglobine, anémie, hypertension artérielle, lésions rénales, problèmes de reproduction / fertilité et lésions cérébrales / nerveuses.
Mercure (Hg)	Les formes organiques de mercure, telles que le méthylmercure, sont plus toxiques que les formes inorganiques en raison de la facilité d'absorption digestive. Les symptômes d'empoisonnement au mercure comprennent: lésions rénales, perturbation du système nerveux, lésions des fonctions cérébrales, lésions de l'ADN et des chromosomes, réactions allergiques, lésions des spermatozoïdes, anomalies congénitales et fausses couches. Les valeurs de DL50 sont aussi faibles que 1 mg / kg1 chez les petits animaux.

•Neurotoxicité :

L'exposition chronique au plomb, même à des niveaux très faibles, a été associée à une diminution du quotient intellectuel chez les enfants [22]. L'intoxication au méthylmercure causée par la consommation de poisson contaminé au Japon et de pain contaminé en Irak a entraîné une paresthésie, une perte de coordination de la démarche, des troubles de l'élocution, des déficits sensoriels, des troubles mentaux et des effets neurodégénératifs [23, 24]. Une exposition combinée au méthylmercure et au plomb pourrait certainement se produire, mais on ne sait pas si la toxicité est additive, synergique ou ciblée sur des cibles cellulaires uniques. Le méthylmercure n'est pas un problème pour les médicaments, où le mercure inorganique est plus courant, mais est présent dans certains compléments alimentaires, tels que l'huile de poisson.

4. Toxicité des impuretés élémentaires

Le tableau 4 décrit les effets aigus ainsi que les effets chroniques non cancérogènes et cancérogènes induits par les différentes formes chimiques de certaines impuretés élémentaires métaux. Les impuretés élémentaires considérées sont : l'antimoine, l'arsenic, le cadmium, le chrome, le cobalt, le cuivre, l'étain, le mercure, le plomb, le sélénium, le thallium, et le vanadium. Les effets sont présentés par voie d'exposition (inhalation, ingestion et contact cutané). Les effets spécifiques à une spéciation donnée seront également mentionnés s'ils existent. Les effets induits chez l'homme sont les seuls décrits. Dans le cas contraire les effets observés chez l'animal seront indiqués. Les données de ce tableau sont tirées des fiches toxicologiques de l'INERIS.

Tableau 4 : Profil toxicologiques de quelques impuretés élémentaires et leurs différentes formes d'oxydation

Impuretés élémentaires	Différentes formes	Effets aigus	Effets chroniques non Cancérogènes	Effets chroniques Cancérogènes
Antimoine (Sb)	Antimoine élémentaire (Sb ⁰)	Inhalation : les poussières d'antimoine entraînent des troubles gastro-intestinaux, dyspnée, céphalées, vomissement, conjonctivite et écoulement nasal. Ingestion : aucune donnée n'est disponible. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	Inhalation : aucune donnée n'est disponible. Ingestion : aucune donnée n'est disponible chez l'homme. Chez l'animal, l'antimoine métallique induit une diminution du taux d'hématocrite, d'hémoglobine et de protéines plasmatiques. Des faibles doses de tartrate de potassium et d'antimoine induisent une diminution de la durée de vie des rats, une augmentation du taux de cholestérol sérique, et une diminution de la glycémie post prandiale. Contact cutané : l'antimoine induit des éruptions cutanées appelées « antimony spots ».	Aucune donnée n'est disponible.

	Composés de l'antimoine : sulfure, trioxyde...	Inhalation : l'antimoine et ses composés induisent une ulcération du septum nasal. Ingestion : le trioxyde d'antimoine provoque des brûlures d'estomac, coliques, nausées et vomissements. Contact cutané : l'antimoine et ses composés entraînent des dermatites, kératite et conjonctivite.	Inhalation : les fumées d'oxyde d'antimoine entraînent des rhinites, laryngites, bronchites, pneumonites et conjonctivites. Le trioxyde d'antimoine et/ou des poussières de pentoxyde d'antimoine induisent des effets respiratoires (bronchite chronique, emphysème chronique, adhésions pleurales et effets pulmonaires obstructifs. Le trisulfure d'antimoine induit une augmentation de la pression sanguine et des altérations de l'électrocardiogramme. Ingestion : aucune donnée n'est disponible. Contact cutané : les particules de trioxyde d'antimoine provoquent l'apparition de dermatites.	L'inhalation d'oxyde d'antimoine n'affecte pas l'incidence des cancers chez des travailleurs. Chez l'animal, l'inhalation de trioxyde d'antimoine entraîne une augmentation de l'incidence des tumeurs pulmonaires.
--	---	---	--	--

<i>Impuretés élémentaires</i>	<i>Différentes formes</i>	<i>Effets aigus</i>	<i>Effets chroniques non Cancérogènes</i>	<i>Effets chroniques Cancérogènes</i>
Arsenic (As)	As ⁰	Peu toxique, c'est un oligo-élément		
	Formes inorganiques - arsine (AsH ₃) As ³⁻ - arsénite As ³⁺ - arséniate As ⁵⁺ et son oxyde (As ₂ O ₅)	Inhalation : les poussières induisent une irritation respiratoire, rhinite, pharyngite ou laryngite. Le trioxyde de diarsenic est un fort irritant respiratoire (toux, dyspnée, ulcérations voire perforations de la cloison nasale). Ingestion : les symptômes d'une intoxication à l'arsenic inorganique sont : nausées, anorexie, vomissements, douleurs épigastriques et abdominales, diarrhées (10 minutes à 1 heure après l'ingestion). Une exposition sévère peut se traduire par une encéphalopathie aiguë, une insuffisance cardiaque congestive, convulsions, paralysie, coma et mort. La dose létale chez l'homme a été estimée à environ 0,6 mg/kg/j. Contact cutané : l'arsenic inorganique est un fort irritant cutané. Il peut induire des dermites et des ulcérations.	Inhalation : l'arsenic inorganique induit des maladies respiratoires chroniques (rhinite, pharyngite, laryngite, trachéo-bronchite), des troubles sanguins (leucopénie) et des atteintes neurologiques (neuropathies périphériques, pouvant apparaître après 3 semaines ou une encéphalopathie chronique). Ingestion : les symptômes généraux sont : faiblesse, langueur, perte d'appétit et d'énergie, perte des cheveux, enrouement de la voix, perte de poids, troubles mentaux et modifications cutanées (hyperpigmentation et hyperkératose.). Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	Une augmentation de la mortalité par cancer des poumons a été observée chez des populations exposées par inhalation. Une augmentation de la mortalité suite à des cancers du foie, des reins, des poumons et de la vessie et une augmentation de l'incidence de cancers de la peau ont été observées chez les populations consommant de l'eau contaminée en arsenic inorganique

	Formes organiques : Acide monométhylarsonique (MMAA), acide diméthylarsinique (DMAA), oxyde de triméthylarsine (TMAO) et triméthylarsine (TMA)	Les dérivés organiques sont généralement beaucoup moins toxiques que les composés inorganiques. Inhalation : les symptômes observés chez des travailleurs exposés au MMAA et au DMAA sont surtout d'ordre gastro-intestinal (irritation, douleurs abdominales, vomissements et diarrhées) ou d'ordre cutané (dermatites). Ingestion : l'arsenic "alimentaire" quant à lui est considéré comme non toxique. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	Les rares études relatant les effets induits par les dérivés organiques de l'arsenic ont été réalisées chez l'animal. Aucune séquelle à long terme n'a été rapportée avec les dérivés organiques quelle que soit la voie d'exposition	Données non disponibles.
--	--	--	---	--------------------------

<i>Impuretés élémentaires</i>	<i>Différentes formes</i>	<i>Effets aigus</i>	<i>Effets chroniques non Cancérogènes</i>	<i>Effets chroniques Cancérogènes</i>
Cadmium (Cd)	Cadmium métal Composés du cadmium (un seul degré d'oxydation +II : (Cd ²⁺) : les principaux sont l'oxyde, le chlorure et le sulfure	<i>Inhalation</i> : irritation du nez et de la gorge, toux, céphalées, irritabilité, faiblesse musculaire, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, dyspnée, cyanose, douleur dans la poitrine. L'inhalation importante de fumée d'oxyde de cadmium peut entraîner une pneumonie aiguë avec oedème pulmonaire, pouvant être mortel. <i>Ingestion</i> : de fortes doses de sels de cadmium entraînent une irritation gastro-intestinale avec vomissements, douleurs abdominales, diarrhées. Une dose de 20 à 30 mg/kg est généralement mortelle. <i>Contact cutané</i> : aucune donnée n'est disponible.	<i>Inhalation</i> : l'organe cible est le rein. Les symptômes rencontrés sont une néphropathie irréversible pouvant évoluer vers une insuffisance rénale, une fibrose et une protéinurie. D'autres organes peuvent être atteints, le système respiratoire, le tissu osseux et le système nerveux (neuropathies périphériques). <i>Ingestion</i> : l'organe cible est le même que pour l'inhalation et les symptômes sont identiques. Le tissu osseux peut être également atteints, avec le développement de la maladie « Itai-Itai » caractérisée par des douleurs au dos et dans les articulations, par de l'ostéomalacie, des fractures osseuses, et occasionnellement par une défaillance rénale. <i>Contact cutané</i> : aucune donnée n'est disponible.	Le cadmium et ses dérivés pourraient induire des cancers du poumon, de l'appareil respiratoire et potentiellement de la prostate.

<i>Impuretés élémentaires</i>	<i>Différentes formes</i>	<i>Effets aigus</i>	<i>Effets chroniques non Cancérogènes</i>	<i>Effets chroniques Cancérogènes</i>
Chrome (Cr)	Chrome métallique (Cr ⁰)	Pas d'effet toxique rencontré chez l'homme lors d'une contamination par du chrome métallique.		
	Cr ³⁺	Inhalation : l'organe cible est le tractus respiratoire. Ingestion : aucune donnée n'est disponible Contact cutané : l'exposition aiguë au chrome trivalent ne produit pas d'effet sur la peau.	Le Cr³⁺ est un composé naturel de l'organisme, mais il possède également une action toxique. Après exposition, le Cr⁴⁺ est tout ou partiellement réduit en Cr³⁺. Inhalation : l'organe cible est le tractus respiratoire. Les dérivés de Cr³⁺ peuvent se comporter comme des allergènes si la concentration est suffisamment élevée. Les symptômes sont de l'asthme et des dermatites. Ingestion : aucune donnée n'est disponible chez l'homme. Chez l'animal, il a été montré que l'oxyde chromique (180 g/kg pd 88 j) ingéré dans le pain n'induit pas d'effet toxique chez la souris. Contact cutané : dermatites et ulcérations	Les études épidémiologiques réalisées chez des salariés exposés aux ferrochromes ne permettent pas de conclure quant à un effet cancérogène de ce dernier. Dans ce cas, il s'agit essentiellement d'exposition au Cr³⁺.

	Cr⁶⁺ : chromate, dichromate	Inhalation : irritations des muqueuses respiratoires (ulcération, perforation du septum nasal, syndrome asthmatiforme). Ingestion : inflammation du tube digestif puis nécrose (douleurs abdominales, vomissements, diarrhées, hématuries). Contact cutané : irritation de la peau, dermatite de contact, lésions pouvant se transformer en ulcère profond ou « trou de chrome ».	Inhalation : atteinte du système respiratoire : épistaxis, rhinorrhée chronique, irritation et démangeaisons nasales, atrophie de la muqueuse nasale, ulcérations et perforations du septum nasal, toux et expectoration, bronchites, pneumoconioses et pneumonies. Effet sensibilisant se manifestant par de l'asthme ou des dermatites. Des atteintes gastro-intestinales ont été observées lors d'expositions professionnelles par inhalation (douleurs stomacales, crampes, ulcères gastro-duodénaux et gastrites). Ingestion : aucune donnée n'est disponible chez l'homme. Chez l'animal, l'ingestion de 2,5 mg/kg/j de Cr⁴⁺ pendant 1 an dans l'eau de boisson n'induit pas d'effet. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	Cancers pulmonaires, risque de carcinomes du nez, du pharynx et du tractus gastro-intestinal.
--	---	---	---	--

<i>Impuretés élémentaires</i>	<i>Différentes formes</i>	<i>Effets aigus</i>	<i>Effets chroniques non Cancérogènes</i>	<i>Effets chroniques Cancérogènes</i>
Cobalt (Co)	Cobalt élémentaire Composés du cobalt : - Chlorure de cobalt - Nitrate de cobalt - Oxyde de cobalt - Sulfate de cobalt - Sulfure de cobalt	Le cobalt élémentaire ne pose aucun risque connu pour la santé aux personnes qui y sont très peu exposées par la nourriture et les milieux naturels. En milieu professionnel, l'exposition se fait par inhalation et entraîne des atteintes du système respiratoire. Inhalation : le cobalt élémentaire induit des atteintes du système respiratoire (syndrome irritatif avec rhinite, conjonctivite, toux asthme, pneumopathies, hypersensibilités associant des signes fonctionnels respiratoires à un syndrome pseudogrippal). Ingestion : des cas mortels de cardiomyopathies ont été décrits après ingestion de cobalt. Par contre, une autre étude a montré que le cobalt (0,6 à 1 mg de cobalt/kg/j) n'induisait pas d'effet cardiaque. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible	Inhalation : l'organe cible du cobalt est le système respiratoire. Les effets sont multiples : irritation respiratoire, respiration bruyante, asthme, pneumonies et fibroses. Une exposition professionnelle à des poussières de cobalt entraîne des cardiomyopathies. Une sensibilisation au cobalt par inhalation a été également démontrée. Une exposition à des aérosols de chlorure de cobalt entraîne une crise d'asthme. Ingestion : l'exposition par voie orale au cobalt se caractérise par des effets respiratoires, cardiovasculaires, gastrointestinaux, hématologiques, musculo-squelettiques, hépatiques, rénaux, oculaires, thyroïdiens et sur l'état général. Contact cutané : développement de dermatites d'origine asthmatique.	Une augmentation des décès par cancer pulmonaire chez les salariés exposés à du cobalt a été observée. Par inhalation, une exposition vie entière, à des oxydes de cobalt (7,9 mg de cobalt/m³) n'augmente pas l'incidence des tumeurs chez le hamster. Un risque de cancers broncho-pulmonaires a été décrit dans plusieurs études épidémiologiques. L'exposition est simultanée au cobalt et au carbure de tungstène. Les études chez l'animal ont montré que le cobalt induisait un cancer lorsqu'il est introduit dans un muscle ou sous la peau.

	Cobalt II et III : sels organiques et inorganiques (sulfate, oxyde, chlorure, carbonate, nitrate,...)	Il existe peu de données concernant les effets sur l'homme des expositions au cobalt en dehors de l'industrie des métaux durs. Inhalation : les intoxications aiguës peuvent donner un syndrome irritatif des voies respiratoires. Ingestion : l'oxyde de cobalt induit des vomissements et des nausées. Il peut causer la mort pour des doses importantes. Contact cutané : le cobalt ainsi que ses différents sels et oxydes sont sensibilisant et peuvent produire une dermatite allergique.	Inhalation : des réactions asthmatiques peuvent être dues à certains sels de cobalt (dichlorure, stéarate...). Ingestion : des études de cas ont rapporté des effets cardiaques. De rares cas d'effets sur la glande thyroïde ont été décrits. Contact cutané : le cobalt et ses dérivés sont des agents sensibilisant par voie cutanée.	
--	---	--	--	--

<i>Impuretés élémentaires</i>	<i>Différentes formes</i>	<i>Effets aigus</i>	<i>Effets chroniques non Cancérogènes</i>	<i>Effets chroniques Cancérogènes</i>
Cuivre (Cu)	Cuivre élémentaire (n° CAS: 7440- 50-8) Sels de cuivre (Cu ⁺ et Cu ²⁺)	Le cuivre métallique a une toxicité plus faible que les sels de cuivre. Inhalation : les fumées et les poussières contenant du cuivre provoquent : irritation des muqueuses respiratoires et oculaires, congestion des muqueuses nasales, congestion du pharynx, ulcération voire perforation du septum nasal. Ingestion : l'absorption d'une dose unique d'un dérivé du cuivre donne lieu à : goût métallique, douleurs épigastriques, céphalées, nausées, étourdissements, vomissements et diarrhée, tachycardie, difficultés respiratoires, anémie, hématurie, hémorragie gastro-intestinale massive, insuffisance hépatique et rénale aboutissant à la mort. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	Inhalation : le cuivre et ses dérivés induisent une irritation des voies aériennes supérieures et des troubles gastro-intestinaux (anorexie, nausée, diarrhée). Une diminution du taux d'hémoglobine et du nombre d'érythrocytes a été également observée ainsi que des lésions hépatiques (fibrose, cirrhose micronodulaire, angiosarcome, hypertension portale). Ingestion : le cuivre peut induire une insuffisance hépatique aiguë et une hépato-splénomégalie. Le sulfate de cuivre induit une nécrose hépatiques centrolobulaire et une nécrose tubulaire rénale. Contact cutané : le cuivre et ses dérivés peuvent provoquer des réactions allergiques chez certains individus. L'exposition au cuivre peut également provoquer une anémie, une décoloration de la peau et des cheveux.	Aucune certitude n'a pu être établie concernant le rôle potentiellement cancérogène du cuivre chez l'homme.

Impuretés élémentaires	Différentes formes	Effets aigus	Effets chroniques non Cancérogènes	Effets chroniques Cancérogènes
Etain (Sn)	Etain élémentaire (Sn ⁰)	L'inhalation d'étain élémentaire ne produit pas d'effets chez l'homme.	Aucune donnée n'est disponible	Aucune donnée n'est disponible
	Composés inorganiques : L'étain peut former des composés inorganiques à l'état d'oxydation (Sn ⁺²) ou stanneux, et (Sn ⁴⁺) ou stanniques.	Les sels d'étain, lorsqu'ils atteignent la circulation sanguine sont très toxiques et peuvent entraîner une paralysie et autres troubles neurologiques. Inhalation : l'étain est un irritant pour les yeux et les voies respiratoires (nez, gorge) Ingestion : nausées, vomissements, diarrhées, crampes stomacales, fatigue et céphalées. Contact cutané : irritation de la peau	Une exposition importante aux fumées et poussières d'oxyde d'étain (IV) peut entraîner une pneumoconiose bénigne appelée stannose.	
	Composés organiques : R ₄ Sn, R ₃ SnX, R ₂ SnX ₂ et RSnX ₃ (R =butyl, octyl ou phenyl et X = chlorure, fluorure, oxyde, hydroxyde, carboxyle ou thiol).	Le dibutyl- et tributylétain induisent une irritation de la peau et des brûlures chez des travailleurs 1 à 8 h après le contact. Ils causent également une irritation oculaire après un bref contact.	Inhalation : l'acétate de triphénylétain induit : malaise, vertiges, nausées, douleur gastrique, sécheresse de la bouche, troubles de la vision et de la respiration. Une hépatomégalie et une augmentation des transaminases peuvent être observées. Ingestion : aucune donnée n'est disponible. Contact cutané : l'acétate de triphénylétain induit les mêmes symptômes que par inhalation.	

<i>Impuretés élémentaires</i>	<i>Différentes formes</i>	<i>Effets aigus</i>	<i>Effets chroniques non Cancérogènes</i>	<i>Effets chroniques Cancérogènes</i>
Mercuré (Hg)	Métal (liquide/vapeur) Hg ⁰	Inhalation : Chez l'homme exposé au mercure élémentaire, la voie d'absorption principale est l'inhalation et l'organe cible privilégié est le système nerveux central. Les principaux symptômes sont des convulsions, une diminution de l'activité motrice et des réflexes musculaires, des maux de tête, un électroencéphalogramme anormal et des troubles de la fonction respiratoire. Ingestion : Chez l'homme, l'estimation de la dose mortelle de mercure par voie orale se situe entre 10 et 60 mg/kg. Aucune autre donnée n'est disponible. Contact cutané : Aucune donnée n'est disponible.	Inhalation : les organes cibles sont le système nerveux central et le rein. Une exposition à long terme au mercure élémentaire provoque les mêmes effets qu'une exposition à court terme. Plus l'exposition est importante et longue, plus les effets sont sévères et peu réversibles. Ingestion : l'exposition par voie orale au mercure élémentaire induit des troubles cardiovasculaires, gastro-intestinaux mais surtout neurologiques et rénaux. Contact cutané : il a été montré que certaines personnes sensibles au mercure pouvaient développer des stomatites (inflammation buccale, des muqueuses et des gencives) aux endroits ayant été en contact avec les amalgames dentaires	Des études épidémiologiques ont été conduites pour examiner la mortalité par cancer chez des salariés exposés aux vapeurs de mercure élémentaire. Ces études montrent des résultats contradictoires.

mercure inorganique $\text{Hg}^{2+} / \text{Hg}_2^{2+}$		Inhalation : aucune donnée n'est disponible chez l'homme. Ingestion : l'organe cible est le rein. Une nécrose tubulaire pouvant conduire à une insuffisance rénale aiguë et au décès est souvent décrite après une absorption orale de mercure inorganique (accident, suicide). Contact cutané : peut induire la mort à fortes doses.	Inhalation : aucune donnée n'est disponible chez l'homme. Ingestion : l'exposition chronique par voie orale aux composés inorganique du mercure peut entraîner une atteinte du système nerveux central, du tractus gastrointestinal et des reins. Contact cutané : le mercure inorganique peut induire des troubles cardiovasculaires, gastrointestinaux, rénaux, neurologiques et immunologiques.	Aucune étude épidémiologique n'est disponible. Les résultats d'une étude expérimentale ont montré la présence de quelques adénocarcinomes rénaux chez la souris mâle, l'apparition de papillomes de l'estomac chez les femelles. Deux autres étude ne mettent pas clairement en évidence la cancérogénicité du chlorure mercurique.
mercure organique R-Hg^+ R-Hg-R		Inhalation : des cas de décès ont été rapportés chez des salariés ayant inhalé des vapeurs d'alkylmercure à la suite d'accident de travail. La cause des décès n'a pas été identifiée mais dans tous les cas, la mort est survenue avant le développement de troubles neurotoxiques profonds. Ingestion : la voie orale est la voie d'absorption principale. Le cerveau est le principal organe cible. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	Inhalation : l'exposition chronique par voie pulmonaire au mercure organique entraîne des troubles respiratoires, gastro-intestinaux, musculaires, hépatiques et neurologiques. Ingestion : l'exposition par voie orale au mercure organique peut entraîner la mort des individus. Le décès survient, le plus souvent, après une consommation importante de nourriture contaminée par du méthylmercure. Le cerveau est le principal organe cible du mercure organique et les fonctions sensorielles telles que la vue et l'ouïe ainsi que les zones du cerveau impliquées dans la coordination motrice sont	Trois études menées au Japon, ont été sélectionnées pour examiner la relation entre l'exposition au méthylmercure et l'effet cancérogène éventuel. Cette relation n'a pu être clairement mise en évidence.

			généralement affectées. Contact cutané : un seul cas a été rapporté où un salarié fut exposé à des poussières de nitrate de méthyl mercure pendant 2 ans. Ce salarié présentait des brûlures et des vésicules sur l'avant-bras.	
Impuretés élémentaires	Différentes formes	Effets aigus	Effets chroniques non Cancérogènes	Effets chroniques Cancérogènes
Plomb (Pb)	Plomb élémentaire	Aucune donnée n'est disponible	Aucune donnée n'est disponible	Aucune donnée n'est disponible
	Composés inorganiques : deux états d'oxydation +II et + IV (sulfate, carbonate, silicate,...)	L'intoxication aiguë ne se rencontre plus que très rarement. Inhalation : aucune donnée n'est disponible. Ingestion : les troubles digestifs sont parmi les symptômes les plus précoces (fortes coliques associées à des douleurs et crampes abdominales et vomissements). Une atteinte rénale a été aussi décrite (lésions tubulaires caractérisées par une oligurie, une albuminurie, une glycosurie et une hyperphosphaturie). En cas d'atteinte sévère, les lésions au niveau du système nerveux	Pour le plomb et ses dérivés, les symptômes observés sont données en fonction du taux de plombémie et non en fonction de la voie d'exposition. Il en sera de même dans ce tableau. Les organes cibles sont le système nerveux central et périphérique, le système circulatoire, les reins et les organes de reproduction. Les intoxications sévères (plombémies > 1 500 µg/L) se traduisent par une encéphalopathie saturnine grave. Pour des intoxications moins importantes (plombémies < 1 000 µg/L), des troubles	

		central se manifestent cliniquement par une encéphalopathie convulsive et un coma pouvant conduire à la mort. Enfin, des atteintes hépatiques ont été observées chez des enfants présentant des signes d'intoxication aiguë par le plomb. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	d'ordre neurologique ont été observés (irritabilité, troubles du sommeil, anxiété, perte de mémoire, confusion, sensation de fatigue). L'exposition à des niveaux très élevés provoque des paralysies partielles, en particulier au niveau des membres supérieurs. Le plomb induit aussi des anémies, des insuffisances rénales, un effet dépressif sur la glande thyroïde et des effets sur la croissance de l'os chez les enfants. Le plomb induit également des avortements spontanés et la mort foetale.	
	Composés organiques : dérivés méthylés (dont le plomb tétraéthyl et le plomb tétraméthyl) et halogénés	Aucune donnée n'est disponible.	L'encéphalopathie résultant d'une intoxication aux dérivés alkylés est différente de celle due au plomb inorganique. On retrouve le plus fréquemment des troubles psychiatriques, hallucinations, tremblements, délire, insomnie, maux de tête et des variations d'humeur. La durée de l'intoxication va de 1 à 10 semaines. .	

<i>Impuretés élémentaires</i>	<i>Différentes formes</i>	<i>Effets aigus</i>	<i>Effets chroniques non Cancérogènes</i>	<i>Effets chroniques Cancérogènes</i>
Sélénium (Se)	Sélénium élémentaire	Aucune donnée n'est spécifique au sélénium élémentaire	Aucune donnée n'est spécifique au sélénium élémentaire	Aucune donnée n'est spécifique au sélénium élémentaire
	Dioxyde de sélénium (SeO ₂), l'acide sélénieux (SeO ₂ H ₂)	Inhalation : le sélénite, le sélénate ou le dioxyde de sélénium peuvent affecter l'organisme s'ils sont inhalés. Le dioxyde de sélénium est le principal problème, qui intervient dans la plupart des expositions industrielles où le sélénium est chauffé. Le dioxyde forme, en présence d'eau ou de transpiration, l'acide sélénieux qui est un irritant puissant. Il est généralement admis que le sélénite et le sélénate de sodium ainsi que la séléénométhionine et le séléno glutathion sont parmi les espèces les plus toxiques. Ingestion : l'acide sélénieux peut induire la mort. Les symptômes causant la mort sont un oedème pulmonaire et des lésions pulmonaires. Le sélénate de sodium induit une salivation excessive, difficulté pour respirer et diarrhée. Les autres symptômes d'une exposition aiguë aux	Inhalation : un homme ayant été exposé à long terme dans le milieu professionnel a du sélénium et à ses composé à développé un infarctus du myocarde. Après la mort, l'autopsie a mis en évidence une athérosclérose coronarienne ainsi qu'une congestion des poumons, de la rate et du foie. Ingestion : le sélénium et ses composés induisent une sélénose qui se caractérise par une perte de cheveux et des ongles, des lésions cutanées (rougeurs, tuméfaction et ulcération), des caries dentaires et une atteinte du système nerveux. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	

		composés du sélénium sont une sélérose aiguë, une tachycardie, des nausées, des vomissements, une douleur abdominale, une irritabilité et des tremblements. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.		
Impuretés élémentaires	Différentes formes	Effets aigus	Effets chroniques non Cancérogènes	Effets chroniques Cancérogènes
Thallium (Tl)	Thallium élémentaire Composés : acétate de thallium oxyde de thallium carbonate de thallium chlorure de thallium nitrate de thallium sélénite de thallium sulfate de thallium	Inhalation : aucune donnée n'est disponible. Ingestion : les symptômes se développent lentement : les 1 ^{er} signes sont : hémorragie du tractus intestinal, gastro-entérite, douleurs abdominales, nausées, vomissements, constipation, diarrhée, goût métallique. 5 jours après les signes neurologiques apparaissent : paresthésie et hyperesthésie évoluant de manière ascendante, asthénie, myalgie, myopathie, céphalés, troubles de la conscience, irritabilité, insomnie, agitation et plus rarement ataxie, tremblements, délire, hallucinations voire coma convulsif dans les cas suraigus. Des atteintes cardiaques sont ensuite	On retrouve pratiquement les mêmes symptômes que lors d'une intoxication aiguë : Système nerveux central : troubles mentaux organiques. Système nerveux périphérique : neuropathie périphérique (paresthésie, atrophie musculaire, altération de la vision) Alopecie, sécheresse de la peau. Oligo-asthénospermie. Inhalation : l'exposition au iode ou au bromure de thallium induit une asthénie liée à une névrose et un désordre vasculaire. Ingestion : dans certaines études, l'ingestion d'aliments contaminés par du thallium induit des maux de tête, des difficultés pour dormir, une	Une seule étude est disponible chez l'homme, mais elle n'est pas adéquate pour établir la classification cancérogène du thallium. Cette dernière a été réalisée à partir des données animales.

		observées au cours de la 2ème semaine : tachycardie, hypertension artérielle. L'évolution peut être mortelle en quelques jours en cas d'intoxication massive (convulsions, coma, paralysie). Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	vulnérabilité, une nervosité ainsi que les symptômes neurologies observés lors d'une exposition aiguë et des atteintes musculaires. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	
Impuretés élémentaires	Différentes formes	Effets aigus	Effets chroniques non Cancérogènes	Effets chroniques Cancérogènes
Vanadium (V)	Pentoxyde de vanadium	Inhalation : le pentoxyde de vanadium provoque des irritations de la peau et des muqueuses. Certains composés du vanadium réagissent avec l'eau et produisent des vapeurs toxiques et irritantes contenant de l'acide chlorhydrique. Les personnes exposées à des concentrations élevées en vanadium pendant des périodes courtes ont présenté des symptômes respiratoires persistant 7 à 14 jours. Ingestion : le pentoxyde de vanadium un poison pour le sang, le foie et les reins. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	Inhalation : effets irritants sur l'appareil respiratoire supérieur, bronchites chronique, pneumonies. Ingestion : les effets sont mal connus. Contact cutané : aucune donnée n'est disponible.	

5. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) et les concentrations limites autorisées

Le terme dose journalière tolérable (TDI) est utilisé par le Programme international de sécurité chimique (IPCS) pour décrire les limites d'exposition des produits chimiques toxiques et le terme dose journalière acceptable (DJA) est utilisé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et d'autres autorités et instituts de santé internationaux. Pour éviter toute confusion de valeurs différentes pour les DJA de la même substance à la directive ICH Q3C relative aux solvants résiduels, l'exposition journalière admissible (EJA) pour chacune des impuretés élémentaires a été définie. L'EJA est l'exposition maximale acceptable sur le plan pharmaceutique aux impuretés élémentaires sur une base chronique qui ne devrait pas produire d'effets nocifs sur la santé. L'EJA s'applique à chaque substance pharmaceutique.

Selon la directive concernant les impuretés élémentaires de l'ICH (Q3D), les facteurs pris en compte dans l'évaluation de l'innocuité visant à établir les EJA sont énumérés ci-après par ordre approximatif de pertinence :

- L'état d'oxydation probable de l'élément présent dans le produit pharmaceutique;
- Les données sur l'exposition humaine et l'innocuité, lorsqu'elles apportaient des renseignements pertinents;
- L'étude sur les animaux la plus pertinente;
- La voie d'administration;
- Le ou les paramètres pertinents.

Les valeurs d'EJA des impuretés élémentaires ont été établies, conformément aux procédures de fixation des limites d'exposition dans les produits pharmaceutiques et à la méthode adoptée par le Programme international pour la sécurité chimique (IPCS) pour évaluer le risque des produits chimiques pour la santé. L'ICH, l'USP et l'EMA ont tous établi des limites d'exposition journalière admissible. L'ICH et l'USP ont établi des EJA harmonisés pour les voies orale, parentérale et par inhalation. Tandis que l'EMA a établi des EJA pour les voies orale et parentérale seulement. La méthode utilisée par la directive Q3D de

l'ICH pour établir l'EJA de chaque impureté élémentaire est expliquée en détail au niveau de l'annexe 1 de ladite directive.

5.1. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) et de concentration des impuretés élémentaires de la directive Q3D de l'ICH

Les EJA du présent tableau ont été établies en fonction des données sur l'innocuité décrites dans les monographies figurant à l'annexe 3 de la directive Q3D de l'ICH [6] et visent les nouveaux produits pharmaceutiques. Les EJA indiquées dans les monographies ne sont pas arrondies. Par souci de commodité, les EJA du présent tableau ont été arrondies à 1 ou 2 chiffres significatifs. Les EJA inférieures à 10 affichent 1 chiffre significatif et sont arrondies à l'unité la plus proche. Les EJA supérieures à 10 sont arrondies à 1 ou 2 chiffres significatifs, selon le cas. Les principes appliqués pour arrondir les chiffres du présent tableau s'appliquent à toutes les EJA calculées pour les autres voies d'administration. Les valeurs indiquées dans ce tableau représentent aussi les concentrations admissibles en microgrammes par gramme d'impureté élémentaire dans les produits pharmaceutiques, les substances pharmaceutiques et les excipients. Ces limites de concentration sont prévues pour être utilisées pour évaluer la teneur en impuretés élémentaires des produits pharmaceutiques dont la dose journalière est inférieure ou égale à 10 grammes par jour.

Tableau 5 :Expositions journalières admissibles et les concentrations maximales autorisées pour les impuretés élémentaires selon la directive Q3D de l'ICH [6]

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

5.2. Les limites d'exposition journalière admissible (EJA) et de concentration des impuretés élémentaires de l'EMEA

Contrairement à l'ICH, l'EMEA n'a pas établi des EJA spécifiques pour chaque impureté élémentaire, mais a établi des EJA pour chaque classe pour les voies d'administration orale et parentérale. Pour les platinoïdes de la sous-classe 1B, une approche prudente a été adoptée, car les données de toxicité sont très limitées. Les limites d'exposition et de concentration par voie orale et parentérale pour les différentes classes d'impuretés élémentaires sont présentées dans le tableau suivant [25].

Tableau 6 : Expositions journalières admissibles et les concentrations maximales autorisées pour les impuretés élémentaires selon l'EMEA [140]

Classe	Voie orale		Voie parentérale	
	EJA (µg/j)	Concentration (µg/g)	EJA (µg/j)	Concentration (µg/g)
Classe 1A: Pt, Pd	100	10	10	1
Class 1B: Ir, Rh, Ru, Os	100	10	10	1
Class 1C: Mo, Ni, Cr, V	300	30	30	3
Classe 2: Cu, Mn	2500	250	250	25
Classe 3: Fe, Zn	13000	1300	1300	130

5.3. Conversion des EJA en concentration limite dans le produit pharmaceutique

Les EJA, exprimées en microgrammes par jour ($\mu\text{g}/\text{jour}$), représentent la quantité maximale admissible de chaque élément qui peut être contenue dans la dose journalière maximale d'un produit pharmaceutique. Comme les EJA ne rendent compte que de l'exposition totale à un produit pharmaceutique, il est utile de les convertir en concentrations pour évaluer les impuretés élémentaires présentes dans les produits pharmaceutiques ou leurs composants. L'ICH de même que l'EMA ont proposé plusieurs options pour établir les concentrations d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques ou leurs composants qui font en sorte que le produit pharmaceutique ne dépasse pas les EJA. Pour choisir une option donnée, on doit connaître ou supposer la dose journalière du produit pharmaceutique. Les limites de concentration admissibles peuvent servir [6]:

- D'outil dans l'évaluation des risques pour comparer les concentrations observées ou prévues et les EJA;
- Dans les discussions avec les fournisseurs, à contribuer à établir des contrôles en amont qui font en sorte que le produit ne dépasse pas l'EJA;
- À établir des cibles de concentration pendant la mise au point de contrôles en cours de fabrication sur les impuretés élémentaires;
- À transmettre l'information concernant les contrôles des impuretés élémentaires dans les présentations réglementaires.

L'EMA propose deux options pour établir les concentrations d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques ou leurs composants. Alors que l'ICH en propose 4. Les options proposées par l'EMA correspondent aux options 1 et 3 proposées par l'ICH.

Comme indiqué dans la figure 2, il existe de nombreuses sources d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques. Lorsque l'on suit l'une quelconque des options proposées par l'ICH décrites ci-après, il faut tenir compte des impuretés élémentaires provenant des contenants et des dispositifs de fermeture ainsi que de l'équipement de

fabrication avant de calculer la concentration maximale admissible dans les autres composants (excipients et substances pharmaceutiques). Si l'on détermine au cours de l'évaluation des risques que les contenants et dispositifs de fermeture et l'équipement de fabrication n'apportent aucune contribution à la concentration des impuretés élémentaires dans le produit pharmaceutique, il n'est pas nécessaire d'en tenir compte. En présence de contributions provenant des contenants et des dispositifs de fermeture et de l'équipement de fabrication, il est possible de rendre compte de ces contributions en soustrayant la dose journalière estimée provenant de ces sources de l'EJA avant de calculer la concentration admissible dans les excipients et la substance pharmaceutique [6]. Différents exemples d'utilisation de ces options afin d'établir les concentrations d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques ou dans leurs composants sont donnés dans l'annexe 4 de la directive Q3D de l'ICH.

✓ **Option 1 : Limites des concentrations admissibles communes des éléments dans les composants des produits pharmaceutiques dont la dose journalière est inférieure ou égale à 10 grammes**

Cette option ne veut pas laisser entendre que tous les éléments sont présents à la même concentration; elle fournit plutôt une méthode de calcul simplifiée. L'option part de l'hypothèse que la dose journalière (quantité) du produit pharmaceutique est inférieure ou égale à 10 grammes et que les impuretés élémentaires décelées au cours de l'évaluation des risques (les éléments cibles) sont présentes dans tous les composants du produit pharmaceutique. Au moyen de l'équation ci-dessous et d'une dose journalière de 10 grammes du produit pharmaceutique, cette option permet de calculer une concentration admissible commune des éléments cibles pour chaque composant du médicament. Cette méthode permet de déterminer, pour chaque élément cible, une concentration maximale commune fixe en microgrammes par gramme de chaque composant.

$$\text{Concentration maximale } (\mu\text{g/g}) = \frac{\text{Exposition Journalière Admissible } (\mu\text{g/j})}{\text{Dose journalière du produit pharmaceutique } (\text{g/j})}$$

Si la concentration de tous les éléments cibles décelés au cours de l'évaluation des risques ne dépasse pas la concentration de l'option 1 dans tous les composants d'un produit pharmaceutique, il est possible d'utiliser tous ces composants dans n'importe quelle proportion dans le produit pharmaceutique.

L'USP a défini une valeur J correspondant à la concentration maximale d'un échantillon dilué. La valeur J est calculée en divisant l'EJA de chaque élément par la dose quotidienne du médicament et multipliée par le facteur de dilution (FD) adopté dans la procédure analytique, comme indiqué dans l'équation suivante :

$$J = \frac{\text{Exposition Journalière Admissible } (\mu\text{g/j})}{\text{FD} * \text{Dose journalière du produit pharmaceutique}}$$

✓ **Option 2a : Limites des concentrations admissibles communes dans les composants d'un produit pharmaceutique dont la dose journalière est définie**

Cette option est similaire à l'option 1, sauf qu'elle ne suppose pas une dose journalière du médicament de 10 grammes. La concentration admissible commune de chaque élément est déterminée au moyen de l'équation l'option 1 et de la dose journalière maximale réelle.

Cette méthode permet de déterminer, pour chaque élément cible, une concentration maximale commune fixe en microgrammes par gramme de chaque composant en fonction de la dose journalière réelle fournie.

Si la concentration de tous les éléments cibles décelés au cours de l'évaluation des risques ne dépasse pas la concentration maximale commune calculée dans tous les composants d'un produit pharmaceutique, il est possible d'utiliser tous ces composants dans n'importe quelle proportion dans le produit pharmaceutique.

✓ **Option 2b : Limites des concentrations admissibles dans les composants individuels d'un produit dont la dose journalière est définie**

Cette option nécessite des renseignements supplémentaires concernant la présence potentielle d'impuretés élémentaires précises dans certains composants précis du produit pharmaceutique. Il est possible de calculer la masse maximale prévue de chaque impureté élémentaire qui pourrait être présente dans les composants du produit pharmaceutique final en multipliant la masse de chaque substance qui compose le produit par la concentration admissible établie pour chaque substance et en additionnant tous les composants du produit pharmaceutique, comme le décrit l'équation ci-dessous. La masse totale de l'impureté élémentaire présente dans le produit pharmaceutique doit respecter les EJA indiquées au tableau 5, à moins d'une justification. Si l'évaluation des risques a permis de déterminer qu'un élément donné n'est pas une impureté potentielle dans un composant précis, il n'est pas nécessaire d'établir un résultat quantitatif pour l'élément donné dans le composant en question. Cette méthode permet à la concentration maximale admissible d'un élément dans certains composants du produit pharmaceutique d'être plus élevée que les limites de l'option 1 ou de l'option 2a; ce qu'il faut ensuite compenser en réduisant les concentrations admissibles dans les autres composants du produit pharmaceutique.

$$EJA (\mu\text{g/jour}) > \sum_{k=1}^N C_k * M_k$$

k = indice pour chacun des composants N du produit pharmaceutique

C_k = concentration admissible de l'impureté élémentaire dans le composant k ($\mu\text{g/g}$)

M_k = masse du composant k dans la dose journalière maximale du produit pharmaceutique (g)

✓ **Option 3 : Analyse du produit fini**

On peut mesurer la concentration de chaque impureté élémentaire dans le produit pharmaceutique final. L'équation de l'option 1 peut servir à calculer la concentration maximale admissible de l'impureté élémentaire au moyen de la dose journalière totale maximale du produit pharmaceutique.

Dans certains cas, des concentrations d'impuretés élémentaires supérieures à une EJA établie peuvent être admissibles. Ces cas peuvent comprendre, sans toutefois s'y limiter, les situations suivantes [6]:

- L'administration intermittente;
- L'administration à court terme (c'est-à-dire 30 jours ou moins);
- Des indications précises (p. ex., potentiellement mortel, besoins médicaux non satisfaits, maladies rares).

III. La réglementation de la présence des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques

La réglementation des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques fait depuis longtemps l'objet de discussions. Au cours des années les différentes pharmacopées, à savoir la pharmacopée européenne, la pharmacopée américaine, la pharmacopée chinoise, ont publiés plusieurs directives concernant le contrôle des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques. L'ICH en tant que organisation d'harmonisation a rédigé une ligne directrice dédié aux impuretés élémentaires. L'ICH par sa ligne directrice Q3D propose un processus d'évaluation et de contrôle des impuretés élémentaires présentes dans les produits pharmaceutiques. Cette ligne directrice constitue un document sur lequel les différentes pharmacopées et organismes de réglementation se base pour finaliser et harmoniser leurs approches de la mise en œuvre de réglementations des impuretés élémentaires.

1. L'ICH

La proposition initiale de contrôle des impuretés élémentaires a été publiée en 2009. Dans ce concept, il a été accepté que les tests colorimétriques pour les essais limites des métaux ne fussent pas appropriés et souvent les niveaux fixés pour les impuretés élémentaires étaient davantage basés sur la détectabilité que sur la toxicologie. À ce titre, il a été proposé que de nouvelles directives soient établies sur la base d'études toxicologiques solides ainsi que de considérations d'essais pratiques. Les orientations de ces discussions ont finalement été finalisées en décembre 2014 avec la publication des directives ICH Q3D. Les directives publiées par l'ICH comprennent 24 éléments, regroupés en 3 catégories en fonction de leur toxicité relative, de la probabilité d'apparition et de la voie d'administration. Des limites d'exposition ont également été attribuées aux éléments de ce tableau en fonction de la toxicologie et de la voie d'administration. Ces valeurs sont non seulement données en tant que limites d'exposition journalière admissibles (EJA, en μg), mais également la concentration autorisée utile dans les produits médicamenteux (en $\mu\text{g} / \text{g}$), en supposant que la posologie maximale sera de 10 g par jour. Le but de ces directives est d'aider les établissements

pharmaceutiques industriels à établir de manière adéquate le risque de contamination dans les produits médicamenteux finaux et donc à mettre en danger la sécurité des patients. Chaque élément répertorié a un profil toxicologique spécifique, dépendant de sa classe et de sa voie d'administration. Ces informations sont utilisées pour mettre en évidence quand un élément doit ou non être considéré comme faisant partie de l'évaluation des risques, ce qui permet de simplifier le processus. Si un élément a été utilisé dans la fabrication ou ajouté au produit pharmaceutique, il doit être inclus dans le cadre de l'évaluation des risques. Si un élément n'est pas ajouté intentionnellement, son inclusion dans le cadre de l'évaluation est basée sur la toxicité de l'élément, la probabilité d'être présent et la voie d'administration.

La ligne directrice Q3D stipule aussi de remplacer le test limite des «métaux lourds» de chimie humide, par une nouvelle technologie analytique, en particulier des technologies basées sur le plasma à couplage inductif (ICP). Cette action de l'ICH a déclenché des réactions rapides de l'USP et de la PE pour s'harmoniser avec les exigences de l'ICH. Après l'adoption du Q3D par l'ICH, la FDA et l'USP ont rapidement agi pour harmoniser la réglementation américaine avec les nouvelles exigences. Parmi les nouvelles exigences figurait la fixation de limites individuelles pour les métaux et la définition de l'EJA qui est la quantité d'une impureté élémentaires dans la dose quotidienne qui ne causera probablement aucun événement indésirable au cours d'une exposition à vie.

2. La pharmacopée européenne

La réglementation des impuretés élémentaires au niveau de la pharmacopée européenne a été initiée dans un projet de document déposé par le comité des médicaments à usage humain en 1998. Il est finalement apparu dans la réglementation européenne en septembre 2008, avec un effet immédiat pour les nouveaux produits médicamenteux et un calendrier proposé de 5 ans pour son application sur les produits déjà sur le marché. Ces réglementations se concentraient sur les métaux qui étaient susceptibles d'être présents dans les produits médicamenteux par l'ajout de catalyseurs (comme le Pt ou le Pd) ou sous la forme de métaux d'usure par contact avec l'équipement de traitement pendant la fabrication, comme le cuivre provenant de la tuyauterie ou l'acier inoxydable ou comme V et Mo de l'équipement de traitement [26]. Dans un souci d'harmonisation avec les directives de l'ICH, la mise en œuvre

de la réglementation sur les impuretés élémentaires au sein de la PE a été retardée. Une fois les directives de l'ICH finalisées, la décision a été de reproduire ce document textuellement dans le chapitre 5.20 de la PE, avec une date de conformité de décembre 2017 pour tous les produits.

3. La pharmacopée américaine (USP)

Des groupes de travail l'USP ont démarré le projet de la mise en œuvre de la réglementation des impuretés élémentaires en 2009. A l'origine, une liste de 15 éléments a été choisie en fonction principalement de la toxicité et de la probabilité de leur présence dans les produits finis médicamenteux, quatre éléments étant obligatoire pour les tests (As, Cd, Hg et Pb) et 11 autres étaient facultatifs en fonction des processus utilisés [26]. Les tests pour ces éléments étaient décrits dans le chapitre « 231 » intitulé « métaux lourds ». Les tests étaient colorimétriques et se basaient sur des réactions de précipitation à pH 3,5 sous forme de sulfures colorés sous l'action d'ions sulfure ou de réactifs capables de les reproduire. Par la suite, du fait du manque de spécificité et de sensibilité dont souffraient les tests colorimétriques, le chapitre « 231 » fut remplacé par le chapitre « 232 ».

L'USP a introduit de nouvelles limites et procédures analytiques pour les impuretés élémentaires dans les chapitres généraux « 232 » (Impuretés élémentaires – Limites) et « 233 » (Impuretés élémentaires – Procédures). Leurs principaux objectifs sont de :

- Fixer des limites pour les niveaux acceptables d'impuretés élémentaires dans les produits médicamenteux finis,
- Mettre à jour la méthodologie utilisée pour tester les impuretés élémentaires dans les produits médicamenteux afin d'inclure des procédures analytiques modernes instrumentales.

L'USP a travaillé en étroite collaboration avec l'ICH pour aligner ses nouveaux chapitres généraux avec l'ICH Q3D. Le chapitre général « 232 » adopte une approche fondée sur l'évaluation du risque pour le contrôle des impuretés élémentaires, comme décrit dans l'ICH Q3D.

Le chapitre général « 232 » exige le contrôle des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques finis en fixant des limites pour les niveaux acceptables. Le chapitre

général « 232 » exige également une assurance de conformité aux niveaux spécifiés lorsque des impuretés élémentaires sont connues pour être présentes, ajoutées ou susceptibles d'être introduites. Cependant, le chapitre n'exige pas de tests de routine du produit médicamenteux pour garantir la conformité. Selon la source d'une impureté élémentaire et le risque que son niveau dans le produit médicamenteux fini dépasse l'EJA, des approches alternatives pour assurer la conformité peuvent être adoptées. Par exemple, des tests de routine pourraient être effectués sur les composants (substances actives et excipients) au lieu du produit médicamenteux fini. Si le risque que la quantité d'une impureté élémentaire dépasse son EJA dans le produit médicamenteux est suffisamment faible, il peut ne pas être nécessaire de tester chaque lot de produit médicamenteux pour cette impureté.

Les chapitres généraux « 232 » et « 233 » sont actuellement officiels. Ils ont remplacé le chapitre général « 231 ». L'USP conserve cependant d'autres tests limites de métaux spécifiques (par exemple, le chapitre général « 211 » relatif à l'arsenic) qui apparaissent dans une monographie particulière. Dans certains cas, des monographies USP peuvent spécifier des limites d'impuretés qui diffèrent du chapitre général « 232 ». Lorsque des limites spécifiques sont incluses dans une monographie ou dans un chapitre général référencé par une monographie, ces limites sont les limites officielles auxquelles les fabricants doivent se conformer.

4. La pharmacopée chinoise

L'annexe IX de la Pharmacopée chinoise présente les niveaux de sécurité et de nombreuses méthodes d'identification ainsi que la quantification des métaux lourds dans les médicaments [26].

Parmi ces méthodes on peut distinguer des :

- Tests limites basés sur la méthode colorimétrique.
- Tests quantitatifs basés sur la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif et la spectrométrie d'absorption atomique.

IV. Evaluation des risques et stratégie de contrôle selon l'approche de la directive Q3D de l'ICH

1. L'évaluation des risques de présence d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques

L'évaluation des risques du produit, dans le cas des impuretés élémentaires, est donc axée sur l'évaluation des concentrations des impuretés élémentaires dans un produit pharmaceutique par rapport aux EJA indiquées dans le tableau 5. Les renseignements utilisés dans cette évaluation des risques comprennent, sans toutefois s'y limiter, les données générées par l'établissement pharmaceutique industriel, les renseignements fournis par les fabricants de la substance active pharmaceutique ou de l'excipient ou les données tirées de la documentation publiée. Le processus d'évaluation des risques peut être décrit en trois étapes :

- Reconnaître les sources connues et potentielles d'impuretés élémentaires qui peuvent se retrouver dans un produit pharmaceutique;
- Évaluer la présence d'une impureté élémentaire donnée dans le produit pharmaceutique en déterminant la concentration observée ou prévue de l'impureté et en la comparant avec l'EJA établie;
- Résumer et consigner l'évaluation des risques. Déterminer si les mesures de contrôle intégrées au processus sont suffisantes ou définir les mesures de contrôles supplémentaires à envisager pour limiter la présence des impuretés élémentaires dans le produit pharmaceutique.

1.1. Reconnaître les sources connues et potentielles d'impuretés élémentaires qui peuvent se retrouver dans un produit pharmaceutique

Lorsque l'on examine la production de produits pharmaceutiques, on observe des catégories larges de sources potentielles d'impuretés élémentaires. Ces différentes sources potentielles sont présentées dans la figure 2. Chacune des sources potentielles, individuellement ou en combinaison, peut introduire des impuretés élémentaires dans le

produit pharmaceutique. Au cours de l'évaluation des risques, il faut tenir compte des contributions potentielles de chacune de ces sources pour déterminer l'apport général d'impuretés élémentaires au produit pharmaceutique.

- Impuretés élémentaires potentielles dérivées de catalyseurs et de réactifs inorganiques intentionnellement ajoutés : Si un élément figurant au tableau 5 est intentionnellement ajouté, il doit être pris en compte dans l'évaluation des risques.

- Impuretés élémentaires potentielles qui peuvent être présentes dans les substances pharmaceutiques ou les excipients : Même si certaines impuretés élémentaires ne sont pas intentionnellement ajoutées, elles peuvent être présentes dans certaines substances pharmaceutiques ou certains excipients. L'évaluation des risques doit rendre compte de l'inclusion potentielle de ces éléments dans le produit pharmaceutique.

- Impuretés élémentaires potentielles dérivées de l'équipement de fabrication : L'apport d'impuretés élémentaires provenant de cette source peut être limité, et le sous-ensemble d'impuretés élémentaires dont il faut tenir compte dans l'évaluation des risques dépend de l'équipement de fabrication utilisé dans la production du produit pharmaceutique. Les connaissances sur les procédés, le choix de l'équipement, la qualification de l'équipement et les contrôles conformes aux BPF permettent de s'assurer que l'apport provenant de l'équipement de fabrication reste faible. Il convient d'évaluer les impuretés élémentaires préoccupantes précises en fonction des connaissances sur la composition des composants de l'équipement de fabrication qui entrent en contact avec les composants du produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur cette source d'impuretés élémentaires peut être utilisée pour de nombreux produits pharmaceutiques qui utilisent les mêmes processus et procédés de transformation.

En général, les procédés qui servent à préparer une substance thérapeutique donnée sont considérablement plus agressifs du point de vue du potentiel de lessivage ou d'extraction d'impuretés élémentaires à partir de l'équipement de fabrication que les procédés utilisés pour préparer le produit pharmaceutique. L'apport d'impuretés élémentaires provenant de l'équipement de fabrication des produits pharmaceutiques devrait être inférieur à l'apport observé dans la substance pharmaceutique. Cependant, lorsque cela n'est pas le cas d'après

les connaissances ou la compréhension au sujet du procédé, le requérant doit tenir compte de l'incorporation potentielle d'impuretés élémentaires provenant de l'équipement de fabrication des produits pharmaceutiques dans l'évaluation des risques.

- Impuretés élémentaires infiltrées en provenance du contenant et du dispositif de fermeture : La détection des impuretés élémentaires potentielles qui peuvent être introduites par le contenant et le dispositif de fermeture doit reposer sur une compréhension scientifique des interactions probables entre un type de produit pharmaceutique donné et son emballage. Lorsqu'un examen des matières de fabrication montre que le contenant et le dispositif de fermeture ne contiennent pas d'impuretés élémentaires, il n'est pas nécessaire d'effectuer une évaluation des risques supplémentaire.

1.2. Évaluer la présence d'une impureté élémentaire donnée dans le produit pharmaceutique

Le tableau suivant est tiré de la ligne directrice Q3D de l'ICH et comprend les recommandations relatives à l'inclusion des impuretés élémentaires dans l'évaluation des risques. Ce tableau peut être appliqué à toutes les sources d'impuretés élémentaires présentes dans le produit pharmaceutique.

Tableau 7 : Éléments à prendre en compte dans l'évaluation des risques [6]

<i>Impureté élémentaire</i>	<i>Groupe</i>	<i>Ajout intentionnel (toutes les voies d'administration)</i>	<i>Ajout non intentionnel</i>		
			<i>Orale</i>	<i>Parentérale</i>	<i>Inhalation</i>
Cd	1	Oui	Oui	Oui	Oui
Pb	1	Oui	Oui	Oui	Oui
As	1	Oui	Oui	Oui	Oui
Hg	1	Oui	Oui	Oui	Oui
Co	2A	Oui	Oui	Oui	Oui
V	2A	Oui	Oui	Oui	Oui
Ni	2A	Oui	Oui	Oui	Oui
Tl	2B	Oui	Non	Non	Non
Au	2B	Oui	Non	Non	Non
Pd	2B	Oui	Non	Non	Non
Ir	2B	Oui	Non	Non	Non
Os	2B	Oui	Non	Non	Non
Rh	2B	Oui	Non	Non	Non
Ru	2B	Oui	Non	Non	Non
Se	2B	Oui	Non	Non	Non
Ag	2B	Oui	Non	Non	Non
Pt	2B	Oui	Non	Non	Non
Li	3	Oui	Non	Oui	Oui
Sb	3	Oui	Non	Oui	Oui
Ba	3	Oui	Non	Non	Oui
Mo	3	Oui	Non	Non	Oui
Cu	3	Oui	Non	Oui	Oui
Sn	3	Oui	Non	Non	Oui
Cr	3	Oui	Non	Non	Oui

Deux résultats possibles peuvent découler du processus de détection des impuretés élémentaires potentielles :

1) Le processus d'évaluation des risques ne décèle aucune impureté élémentaire potentielle. Il faut consigner la conclusion de l'évaluation des risques, de même que les renseignements et données à l'appui.

2) Le processus d'évaluation des risques décèle une ou plusieurs impuretés élémentaires potentielles. Pour chaque impureté élémentaire décelée au cours du processus, l'évaluation des risques doit examiner la présence de sources multiples de l'impureté élémentaire décelée et indiquer la conclusion de l'évaluation et les renseignements à l'appui.

L'évaluation des risques réalisée par l'établissement pharmaceutique industriel peut être facilitée par des renseignements concernant les impuretés élémentaires potentielles provenant des fournisseurs des substances pharmaceutiques, des excipients, des contenants et des dispositifs de fermeture ainsi que de l'équipement de fabrication. Les données à l'appui de cette évaluation des risques peuvent provenir de différentes sources qui comprennent, sans toutefois s'y limiter :

- Les connaissances préalables;
- La documentation publiée;
- Les données générées par des procédés similaires :
- Les renseignements ou les données provenant des fournisseurs;
- Les essais auxquels ont été soumis les composants du produit pharmaceutique;
- Les essais auxquels a été soumis le produit pharmaceutique.

1.3. Résumer et consigner l'évaluation des risques

On peut résumer l'évaluation des risques par l'examen des données pertinentes propres au produit ou aux composants, alliées aux renseignements et aux connaissances acquises au sujet des produits ou des procédés, en vue de repérer les impuretés élémentaires probables

importantes dont la présence pourrait être observée dans le produit pharmaceutique.

Le résumé doit tenir compte de l'importance de la concentration de l'impureté élémentaire observée ou prévue par rapport à son EJA. Pour mesurer l'importance de la concentration de l'impureté élémentaire observée, on définit le seuil de contrôle par la concentration correspondant à 30 % de l'EJA établie dans le produit pharmaceutique. Le seuil de contrôle peut servir à déterminer si des contrôles supplémentaires sont nécessaires.

Si l'on s'attend à ce que la concentration totale de l'impureté élémentaire présente dans le produit pharmaceutique en provenance de toutes les sources soit constamment inférieure à

30 % de l'EJA, il n'est pas nécessaire d'effectuer des contrôles supplémentaires, à condition que le requérant ait adéquatement évalué les données et qu'il démontre des contrôles adéquats à l'égard des impuretés élémentaires.

Si l'évaluation des risques ne montre pas que la concentration de l'impureté élémentaire est constamment inférieure au seuil de contrôle, il faut établir des contrôles afin de s'assurer que cette concentration ne dépasse pas l'EJA dans le produit pharmaceutique

2. Stratégie de contrôle des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques

Après l'évaluation des risques relative à la présence des impuretés élémentaires dans les médicaments, la ligne directrice Q3D de l'ICH met également l'accent sur l'élaboration d'une stratégie de contrôle pour limiter la présence des impuretés élémentaires dans les médicaments. Le contrôle des impuretés élémentaires est l'une des parties de la stratégie de contrôle globale d'un produit pharmaceutique qui permet de s'assurer que les impuretés élémentaires ne dépassent pas les EJA. Dans ce cadre, la ligne directrice prévoit deux approches :

- L'approche « Component », signifiant approche par composant, a pour objectif d'évaluer l'apport potentiel d'impuretés élémentaires pour chacune des sources (Principe actif, excipient, eau, équipement de production, contenant et système de fermeture). La quantité maximale d'impuretés potentiellement amenée au cours du procédé est calculée, puis comparée avec les EJA des impuretés élémentaires.

- L'approche « Drug product », signifiant approche par produit fini, consiste à analyser directement le produit fini pour identifier puis quantifier toutes les impuretés élémentaire et comparer avec les EJA des impuretés élémentaires, pour justifier des essais à intégrer dans la stratégie de contrôle.

Lorsque la concentration d'une impureté élémentaire peut dépasser le seuil de contrôle, il faut mettre en œuvre des mesures supplémentaires pour faire en sorte que la concentration ne dépasse pas l'EJA. Les méthodes qu'un requérant peut adopter comprennent, sans toutefois s'y limiter [6] :

- Une modification des étapes du procédé de fabrication qui ramène les impuretés élémentaires sous le seuil de contrôle au moyen d'étapes de purification spécifiques ou non spécifiques;

- La mise en œuvre de contrôles en cours de fabrication ou en amont en vue de maintenir la concentration de l'impureté élémentaire sous le seuil de contrôle dans le produit pharmaceutique;

- L'établissement de limites de spécification pour les excipients ou les substances;

- L'établissement de limites de spécification pour la substance pharmaceutique;

- L'établissement de limites de spécification pour le produit pharmaceutique;

- La sélection de contenants et de dispositifs de fermeture appropriés.

A l'image de la ligne directrice Q3D de l'ICH, l'EMA a aussi établi une stratégie de contrôle des impuretés élémentaires ; si des processus de synthèse sont connus ou suspectés de conduire à la présence d'impuretés lors d'utilisation d'un catalyseur métallique spécifique pour la production d'une substance pharmaceutique. Des analyses spécifiques relatives aux éléments cibles doivent être entreprises pour déterminer la quantité réelle d'impuretés, en particulier pendant le développement du processus de synthèse [25].

- S'il s'avère que les processus de synthèse entraînent l'élimination des résidus potentiels de ce catalyseur métallique particulier ; les tests de routine ne sont pas demandés.

- Si les processus de synthèse conduisent à des résidus potentiels ; des tests de routine

avec une méthode appropriée et validée sont nécessaires.

Les renseignements sur le contrôle des impuretés élémentaires fournis dans un dossier de demande d'AMM comprennent, sans toutefois s'y limiter, un résumé de l'évaluation des risques, les données appropriées nécessaires et une description des contrôles établis pour limiter les impuretés élémentaires.

V. Les méthodes d'analyse des impuretés élémentaires

Depuis plus de 100 ans, la méthode analytique utilisée pour la détermination des niveaux des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques vendus aux États-Unis était « l'essai limite des métaux lourds » tel qu'il est décrit dans le chapitre « 231 » de l'USP [27]. A l'instar de l'USP, la pharmacopée européenne avait aussi élaboré un « essai limite des métaux lourds », décrit dans le chapitre 2.4.8 de la pharmacopée européenne VIII^{ème} édition. Ces « essais limites des métaux lourds » étaient tous basés sur une réaction de précipitation à pH 3,5 sous forme de sulfures colorés sous l'action d'ions sulfure ou de réactifs capables de les produire. L'information obtenue de ces essais, par examen visuel en comparaison à un témoin, est non spécifique et n'est que qualitative.

Face à cette manque de spécificité, de sensibilité et à l'absence de données quantitatives, ces « essais limites des métaux lourds » ont été abandonnés au profit de méthodes analytiques instrumentales. Avec le développement et l'application des techniques instrumentales modernes, il est devenu possible de fournir des données spécifiques, sensibles et quantitatives concernant les niveaux des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques. De ce fait, les différentes pharmacopées et organismes réglementaires ont élaboré de nouvelles procédures concernant l'analyse des impuretés élémentaires. L'USP a remplacé son chapitre « 231 » par les chapitres « 232 » et « 233 » relatif respectivement aux limites d'EJA et aux procédures analytiques. Le chapitre USP « 233 » recommande l'usage de techniques instrumentales modernes (spectroscopie d'émission optique avec plasma à couplage inductif ou ICP-spectrométrie de masse) pour l'analyse des impuretés élémentaires. Selon l'EMA, les impuretés élémentaires sont généralement déterminées à l'aide de techniques telles que l'absorption atomique ou ICP. L'ICH, dans sa ligne directrice Q3D,

stipule qu'il convient de suivre les méthodes décrites dans les pharmacopées ou d'autres méthodes convenables pour déterminer les concentrations des impuretés élémentaires. Les méthodes convenables dont l'ICH fait allusion sont des méthodes analytiques instrumentales répondant aux exigences de validation analytiques et performances relatives à l'analyse des impuretés. Parmi ces méthodes jugées convenable, on compte la spectrométrie de fluorescence des rayons X, les méthodes électrochimiques en particulier la voltamétrie.

De la même façon que les méthodes analytiques, les stratégies de préparation des échantillons ont évolué au cours du temps. Trois techniques différentes de préparation des échantillons sont utilisées pour la décomposition des échantillons, selon le type d'échantillon, au niveau du chapitre « 231 » de l'USP [28]. La première technique, réservée aux échantillons liquides, concerne une dilution simple des échantillons. Dans la deuxième méthode, les échantillons organiques solides sont chauffés avec de l'acide sulfurique, après une combustion du carbone résiduel dans un four à moufle. Dans la troisième méthode, les échantillons solides sont d'abord digérés en utilisant un mélange d'acide sulfurique, d'acide nitrique et de peroxyde d'hydrogène pour assurer une oxydation complète, après une combustion du carbone résiduel dans un four à moufle. Les deuxième et troisième méthodes étant agressives en raison de l'utilisation d'un four, peuvent entraîner la perte d'impuretés élémentaires volatiles telles que le Sb et le Hg. Pour pallier à ces lacunes, le chapitre « 233 » de l'USP requiert des méthodes de digestion acide en vase clos pour les échantillons.

1. Les stratégies de préparation des échantillons

La préparation des échantillons constitue une étape critique considérée comme la clé du succès de l'analyse de la teneur des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques [29]. La préparation des échantillons pour les produits pharmaceutiques englobe des procédures aussi simples que la dissolution dans de l'acide dilué ou dans des solvants organiques, la combustion dans un four à moufle ou induite par micro-ondes et la digestion assistée par micro-ondes dans des récipients fermés. Généralement, la principale limitation pour l'application des méthodes de dissolution simples est la faible solubilité des substances actives [30].

Dans la littérature, afin de surmonter le risque élevé de contamination ou de pertes d'éléments et l'utilisation de plusieurs réactifs, le développement de différentes stratégies de préparation d'échantillons a été effectué en se concentrant principalement sur trois approches:

- La dissolution directe dans solvants aqueux ou organiques ou extraction;
- La digestion humide;
- La combustion (figure 7).

Pour la détermination des impuretés élémentaires dans des échantillons à matrices organiques ou biologiques, la matière organique est souvent détruite par oxydation. Ce processus peut être réalisé par des procédures «sèches» ou «humides». La digestion humide et la combustion peuvent être réalisées dans des récipients fermés sous irradiation micro-ondes, ce qui évite la perte d'éléments volatils et réduit la quantité de réactifs consommés [31].

Le chapitre général « 233 » de l'USP spécifie quatre approches principales et préférées pour la préparation d'échantillons des produits pharmaceutiques. Ces approches sont illustrées dans la figure 8.

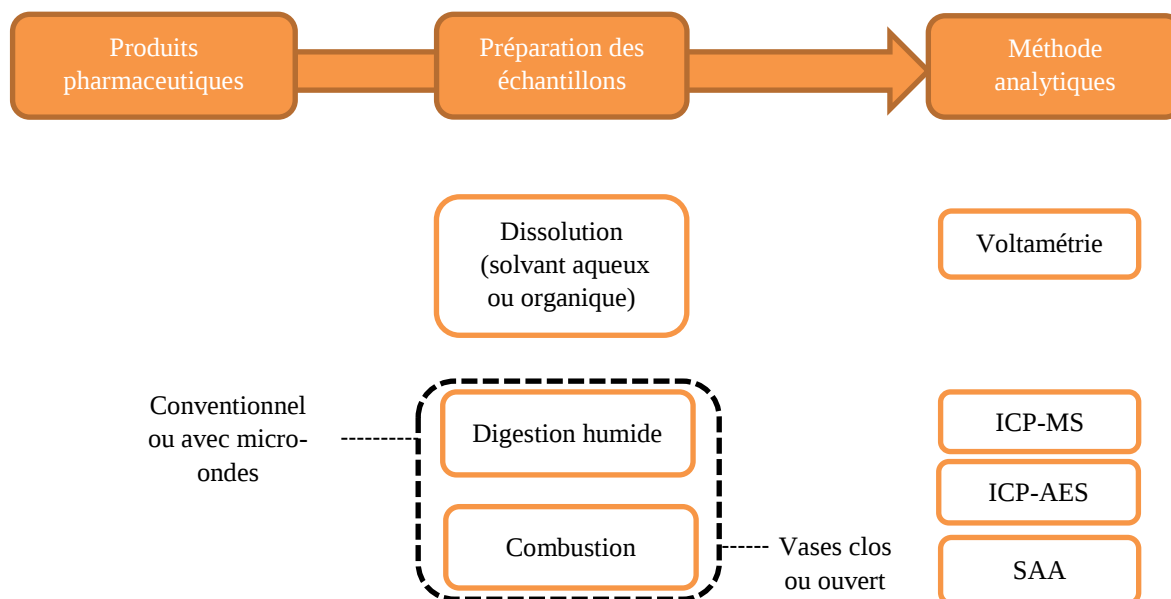


Figure 7: différentes stratégies de préparation d'échantillons pour l'analyse des impuretés élémentaires [139]

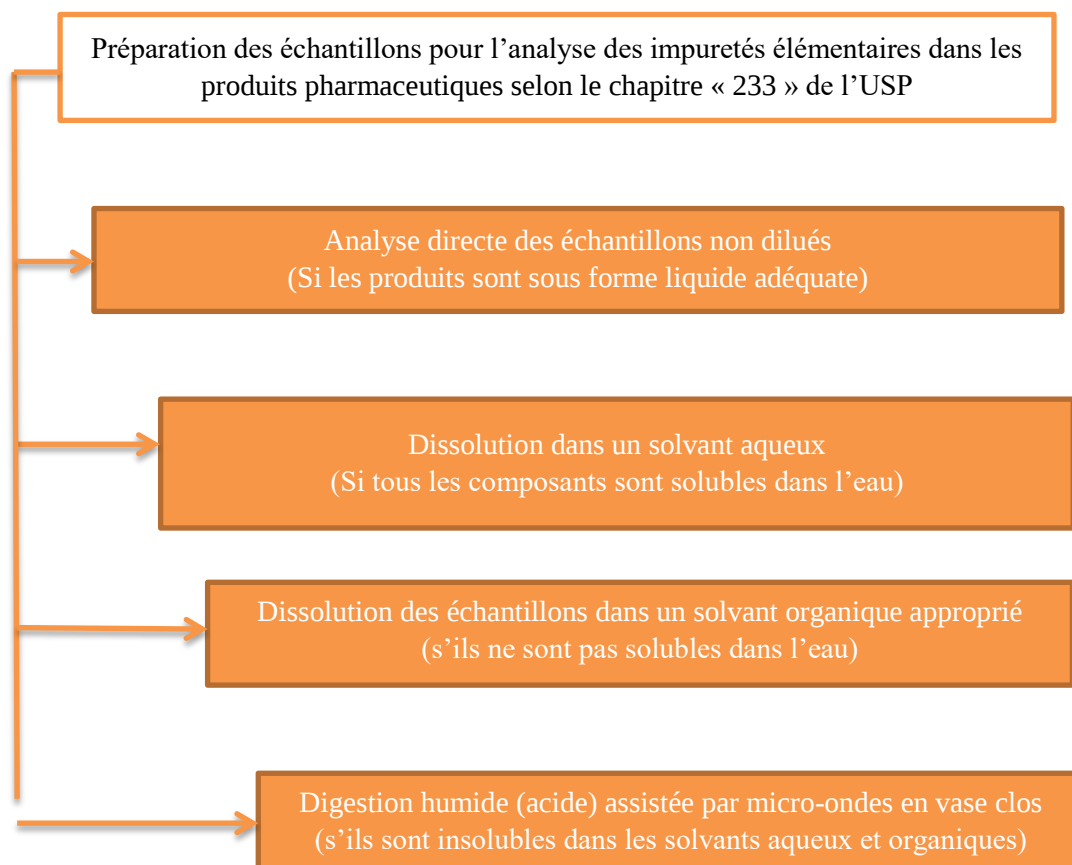


Figure 8: Préparation d'échantillons dans l'analyse des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques selon le chapitre général USP "233" [1]

1.1. La dissolution directe dans solvants aqueux ou organiques

Malgré la possibilité d'analyser des échantillons solides à l'aide de systèmes tels que l'ablation laser (LA) ou la vaporisation électrothermique (ETV), la plupart des méthodes analytiques basées sur l'ICP nécessite la mise en solution des échantillons solides avant leur analyse. L'approche conventionnelle et la plus efficace pour la préparation des échantillons avant la détermination des impuretés élémentaires est la digestion matricielle (digestion acide ou combustion), conduisant à la dégradation des composés organiques et à minimiser les interférences spectrales. Cependant, la dissolution des échantillons dans des solvants aqueux ou organiques puisse se positionner comme un moyen simple, rapide et pratique de préparation

des échantillons, même si une optimisation et une évaluation minutieuses des interférences potentielles doivent être effectuées avant l'analyse.

La dissolution en milieu aqueux est généralement effectuée avec des solutions acides diluées (par exemple, des solutions diluées de HCl ou de HNO₃), mais la masse de l'échantillon reste limitée à quelques milligrammes (de 10 à 100 mg) principalement pour minimiser les interférences causées par sa teneur en carbone. Cette limitation de la masse de l'échantillon altère les meilleures LOD, mais réduit le contenu organique introduit dans le plasma ou dans la flamme. Une autre alternative pour introduire de petites quantités d'échantillons et par conséquent réduire la teneur en carbone est l'utilisation de systèmes d'injection de flux pour l'acquisition de signaux transitoires au lieu de signaux continus [32, 33]. Par rapport aux méthodes de digestion, la dissolution en solution aqueuse présente l'avantage d'éviter des inconvénients pour certains éléments tels que l'osmium, qui peuvent être perdus même lorsque des récipients fermés sont utilisés dans les systèmes de digestion [33]. Cependant, la principale limitation des méthodes utilisant la dissolution en solution aqueuse est la faible solubilité de nombreuses substances actives [30].

Comme mentionné précédemment pour une solution aqueuse, la dissolution à l'aide de solvants organiques peut également empêcher les pertes d'impuretés élémentaires par volatilisation par rapport à la digestion dans des récipients ouverts des échantillons. L'éther monoéthylique du diéthylène glycol, le N, N-diméthylformamide (DMF) et l'éthanol font partie des solvants organiques les plus utilisés pour la dissolution des échantillons [32].

Les méthodes d'extraction peuvent être considérées comme une alternative car généralement les impuretés élémentaires ne sont pas présentes dans la structure moléculaire des substances médicamenteuses. Elles peuvent être incorporées lors de la synthèse et ne sont probablement pas liés chimiquement aux substances médicamenteuses. Parmi les méthodes d'extraction, on peut citer l'extraction assistée par ultrasons [34]. Cette dernière peut être utilisée pour des échantillons liquides ou solides. En particulier pour les solides, la turbulence et la cavitation élevées entraînent l'érosion du matériau solide et par conséquent cela augmente le transfert des impuretés élémentaires vers la phase liquide. Malgré l'efficacité appropriée des méthodes d'extraction assistée par ultrasons, l'optimisation des paramètres

opérationnels de l'instrument à ultrasons (par exemple, la puissance, la fréquence, l'amplitude, la température et le solvant) et l'évaluation de la façon d'appliquer l'énergie ultrasonore (en utilisant des systèmes de bain ou de sonde) sont nécessaires [34].

1.2. La digestion humide

L'extraction des métaux par digestion acide est une technique analytique visant à extraire des analytes métalliques et métalloïdes à partir de leur matrice minérale et organique. Cette extraction est réalisée en solubilisant les métaux dans l'acide. Ainsi débarrassée des autres matières, l'analyse de la solution acide permettra d'obtenir aisément les informations sur les différents analytes présents avec la méthode appropriée. La digestion humide des matrices organiques se fait principalement avec des acides forts. L'acide nitrique (HNO_3) est l'acide fort le plus couramment utilisé en raison de son pouvoir oxydant approprié. Des mélanges de HNO_3 avec HCl , HF , HClO_4 , H_3PO_4 et H_2SO_4 sont également utilisés, selon la matrice, les analytes et / ou le système de digestion [35]. Bien que la digestion humide puisse être effectuée dans des systèmes ouverts ou fermés, les récipients fermés sont préférés pour les produits pharmaceutiques.

1.2.1. La digestion humide dans des récipients ouverts :

La digestion humide dans des récipients ouverts, l'une des techniques les plus anciennes, est sans aucun doute la méthode la plus courante de décomposition ou de dissolution des échantillons organiques et inorganiques utilisés dans les laboratoires de chimie [35]. Cependant, elle nécessite plus d'attention de la part des analystes que les méthodes par combustion. Les acides inorganiques forts tels que HNO_3 , HClO_4 et H_2SO_4 sont les plus souvent utilisés. Les acides fluorhydrique et phosphorique sont utilisés moins fréquemment. Certaines substances sont difficiles à décomposer avec un seul acide et un mélange de deux acides ou plus est souvent utilisé, car les interactions mutuelles dans les mélanges acides peuvent générer des composés intermédiaires instables, ce qui accélère considérablement la décomposition [31]. Le tableau 8 montre certaines propriétés chimiques et physiques de la plupart des produits chimiques utilisés dans les méthodes de décomposition par cendres humides. Selon Barnes et al. [31], dans les systèmes ouverts choisis pour la décomposition

des matières organiques et biologiques, il est conseillé de se souvenir de ce qui suit :

- Il est très difficile d'oxyder complètement les échantillons en utilisant uniquement de l' HNO_3 car cet acide a une température d'ébullition relativement basse. La faible température d'ébullition (121°C) de l'azéotrope formé avec de l'eau facilite l'élimination de l'acide nitrique après oxydation, mais elle limite l'efficacité de l'oxydation.

- L' HClO_4 a le pouvoir oxydant le plus élevé, mais il ne peut pas être utilisé seul en raison du risque imminent d'explosion causé par la formation de perchlorates instables. En pratique, il est toujours recommandé d'utiliser de l'acide perchlorique après ou en combinaison avec un autre acide (généralement de l'acide nitrique).

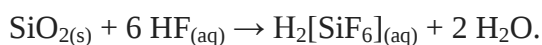
- L' H_2SO_4 pourrait être utilisé seul en raison de sa température d'ébullition élevée, mais le processus d'oxydation est assez lent. Dans la plupart des cas, H_2SO_4 est utilisé en combinaison avec du H_2O_2 .

Tableau 8 : Propriétés des solutions acides les plus utilisés en digestion humide des échantillons pour la détermination des impuretés élémentaires [31]

Réactif	Formule	Masse moléculaire	Température d'ébullition ($^\circ\text{C}$)	Concentration (mol/l)	commentaire
Acide nitrique	HNO_3	63.01	121	16	Mélange azéotropique avec de l'eau
Acide perchlorique	HClO_4	100.46	203	12	Mélange azéotropique avec de l'eau
Acide sulfurique	H_2SO_4	98.08	338	18	Produit commercial
Acide chlorhydrique	HCl	36.46	61 109	12 6.5	Produit commercial Mélange azéotropique avec de l'eau
Acide fluorhydrique	HF	20.01	112 120	29 22	Produit commercial Mélange azéotropique avec de l'eau
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	34.01	106	9.9	Produit commercial

Comme le dit le nom de la méthode, la digestion se fait dans un contenant ouvert,

préférentiellement en verre pour la plupart des acides. Un simple bécher peut suffire comme contenant. Toutefois, si l'utilisation de l'HF est nécessaire, un autre type de contenant doit être utilisé, car celui-ci dissout le verre selon la réaction suivante [36]:



Pour cela, l'acide fluorhydrique est manipulé avec précaution et dans des contenants en plastique ou des récipients en polymères fluorés. De plus, la digestion est dite humide, car elle se fait à l'aide de solution concentrée en acide. La majorité des digestions acides se font en milieux oxydant, soit en ajoutant un agent oxydant ou en utilisant un acide qui est à la fois oxydant comme l' HNO_3 .

Le principe de la méthode de digestion humide en vase ouvert se veut très simple (figure), l'échantillon est d'abord déposé dans un bécher de verre propre, puis il est mélangé avec un acide oxydant fort, un mélange d'acides ou un mélange d'acides et d'agents oxydants. Bien que la digestion est dite dans un récipient ouvert, il peut être nécessaire de déposer un verre de montre sur le montage afin d'éviter la contamination par des poussières ou autres composées volatiles ou en suspension dans l'air. Ensuite, le contenant est déposé sur une plaque chauffante où celle-ci chauffera la solution lentement jusqu'à attendre l'ébullition de la solution. La digestion se réalise alors et la matrice organique est décomposée alors que les métaux sont dissous dans la solution et celle-ci devient alors claire. La digestion se poursuit jusqu'à la quasi complète évaporation de la solution. Lors de la digestion, il peut être important de porter une attention particulière à la possible déposition de l'échantillon sur la paroi du contenant. Il faut alors rincer la paroi avec de l'acide ou de l'eau distillée afin d'éviter toute perte. Le récipient contenant les analytes digérés est refroidi puis ces derniers sont dissous dans une solution diluée de l'acide afin de passer à l'analyse. Une filtration peut être nécessaire si la matrice a laissé des dépôts insolubles après la digestion.

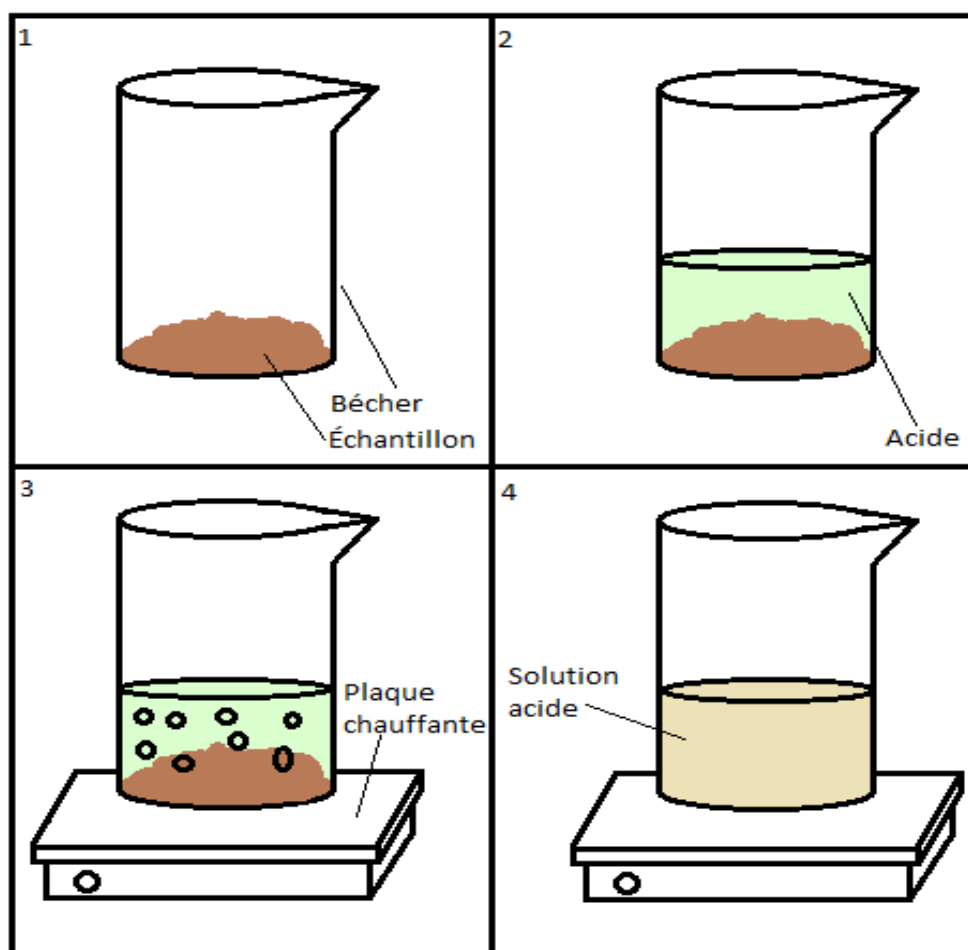


Figure 9: les différentes étapes du principe de la méthode de digestion humide en vase ouvert

L'avantage d'utiliser la méthode de digestion avec un récipient ouvert c'est qu'elle requiert du matériel de faible coût par rapport à la méthode de digestion humide en vase fermé. Cependant, les systèmes de ce type sont limités par une température de digestion maximale faible, qui ne peut pas dépasser la température d'ébullition à pression ambiante de l'acide ou du mélange d'acides correspondant. D'autres inconvénients concernent le risque de contamination par l'air, les quantités nécessairement assez importantes de réactifs nécessaires et les risques de pertes d'éléments.

1.2.2. La digestion humide dans des récipients fermés

Au cours des dernières décennies, les stratégies de préparation des échantillons pour l'analyse des impuretés élémentaires par la méthode de digestion humide dans des récipients fermés sont devenues largement appliquées. Les principaux avantages de cette méthode de digestion sont les suivants [31]:

- L'oxydation des échantillons organiques peut être effectuée et complètement minéralisée avec de l'acide nitrique pur.
- La décomposition des échantillons inorganiques est considérablement améliorée.
- Il n'y a aucune perte d'impuretés élémentaires par volatilisation.
- Des temps de digestion relativement courts peuvent être obtenus à des températures supérieures à la température d'ébullition du ou des réactifs.
- Il y a une diminution remarquable de la consommation de réactif (s).
- Le risque de contamination par des sources externes est considérablement diminué.

La digestion de l'échantillon est essentiellement assurée par une procédure de digestion acide, qui est effectuée sous les effets synergiques d'une température et d'une pression élevées; les acides sont plus efficaces lorsque l'on augmente la température et la pression [35]. Étant donné que le pouvoir oxydant d'un réactif de digestion montre une forte dépendance à la température, une distinction arbitraire doit être faite entre la digestion à basse pression et la digestion à haute pression. Les digestions à basse pression (<20 bar) sont limitées à une température de 180 ° C, alors qu'avec un appareil à haute pression (> 70 bar), la température de digestion peut dépasser 300 ° C, ce qui conduit souvent à une décomposition plus efficace de la matrice de l'échantillon.

Une méthode qui se base sur ce principe est la digestion acide assistée par micro-onde. La particularité de cette digestion est qu'elle utilise une source de micro-onde afin de chauffer l'échantillon et que celui-ci est placé dans un contenant qui est fermé (figure 10). En général, les meilleurs récipients de réaction sont constitués de quartz ou de polymères fluorés synthétiques [37]. Pour ceux qui ont l'intention de travailler avec des températures de réaction

supérieures à 260 ° C, le quartz ou le carbone vitreux sont recommandés. Pour des systèmes de décomposition sous haute pression, l'utilisation de récipients en PTFE (polytétrafluoroéthylène) contenu dans un cylindre en acier (figure 11) est proposée par Bernas [38]. Ceci permet d'avoir un contrôle sur la température et la pression facilement. Les micro-ondes à digestion acide sont équipées d'une sonde qui permet de suivre en temps réel les variations de température à l'intérieur des vases à digestion. Cette condition est essentielle afin d'assurer l'efficacité, la reproductibilité et la sécurité qu'implique cette méthode. Cette méthode de digestion permet aussi d'atteindre des températures et des pressions plus élevées qu'à contenant ouvert.

Plusieurs variantes de la digestion humide assistée par micro-ondes ont été développées [35]:

- La digestion acide pressurisée assistée par micro-ondes
- La digestion acide en phase vapeur assistée par micro-ondes
- La digestion humide en réacteurs combinés micro-ondes-ultrasons
- La digestion humide en réacteur photochimique assisté par micro-ondes



Figure 10: Intérieur d'une micro-onde à digestion acide



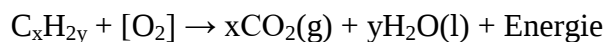
- Résistance à la pression 200 bar
- Température max. 230°C (brièvement à 260°C)
- Temps de minéralisation de deux heures à plusieurs jours
- Exempt de contamination grâce à l'insert en PTFE-TFM
- Différents volumes internes (25-250 ml) permettent différentes prises d'essais
- Qualité de minéralisation remarquable
- Pas de perte d'éléments volatils (ex. Hg, sels de plomb)
- Niveau de sécurité élevé, facilité d'utilisation

Figure 11: Récipient en PTFE pour digestion acide à haute pression assistée par micro-onde

1.3. La combustion

Les méthodes de combustion sont utilisées pour la digestion des composés organiques depuis la fin du XVIIIe siècle avec les travaux pionniers de Lavoisier [39]. La combustion d'échantillons organiques sous oxygène présente une alternative performante à la minéralisation par voie chimique humide. Cette méthode se prête très bien à la détermination consécutive des matériaux non métalliques (notamment les halogènes, le soufre et le phosphore), mais aussi à l'analyse de métaux. Un avantage important des méthodes de combustion est que l'oxygène est le principal réactif utilisé dans l'étape de digestion. Par conséquent, le risque de contamination est plus faible par rapport à la digestion humide où des acides inorganiques sont généralement utilisés, faisant de la combustion une méthode intéressante pour l'analyse des impuretés élémentaires.

La méthode de la cendre sèche classique ou combustion repose sur la pyrolyse et la combustion de l'échantillon organique avec l'oxygène de l'air. La matière organique est convertie en CO₂ et H₂O (le N₂ peut également être formé à partir de composés organiques contenant de l'azote), comme montré dans l'équation suivante :



La combustion est une réaction exothermique qui s'accompagne souvent de formation de flammes et de production de lumière. Une combustion incomplète se produira lorsqu'il n'y aura pas suffisamment d'oxygène pour permettre une conversion complète de la matrice organique en dioxyde de carbone et en eau. Le résidu inorganique de "cendres" résultant est généralement soluble dans l'acide dilué. La prise d'essai est placée dans un creuset (généralement de la porcelaine) et chauffée généralement à l'aide d'une flamme de laboratoire ou dans un four à moufle. L'utilisation du couvercle du creuset empêche les pertes de l'échantillon d'essai sous forme d'aérosol solide, mais la meilleure façon d'éviter cet effet indésirable est d'utiliser un programme de chauffage approprié [31]. Bien que cette méthode soit relativement simple, il existe de sérieux inconvénients dans certaines applications, car certains éléments peuvent être convertis en espèces volatiles et être partiellement ou complètement perdus. De telles pertes par volatilisation deviennent plus graves lorsque des températures de combustion plus élevées sont utilisées.

Les méthodes de digestion des échantillons basées sur les réactions de combustion, de la même façon que la digestion humide, peuvent être effectuées dans des récipients ouverts mais aussi dans des récipients fermés. La méthode dite des « cendre sèches » est réalisée dans des récipients ouverts alors que la méthode dite de « combustion induite par micro-ondes » est réalisée dans des récipients fermés.

1.3.1. La méthode des cendres sèches

La cendre sèche est l'une des méthodes les plus utilisées pour la digestion des échantillons et son utilisation est recommandée dans plusieurs méthodes officielles telles que celles décrites par les pharmacopées européenne et américaine. Cette méthode est simple et est réalisée dans un four à moufle (figure 12) chauffé à environ 500 ° C. L'échantillon est

introduit dans un creuset (figure 13) généralement réalisé en céramique, quartz ou platine. Après plusieurs heures de chauffage (par exemple 4 h), les cendres résultantes sont dissoutes dans des acides dilués (HCl ou HNO₃). Le grand avantage de cette cendre sèche est que des masses d'échantillons relativement élevées peuvent être digérées (environ 1 à 2 g) et plusieurs échantillons peuvent être traités simultanément. Cependant, plusieurs inconvénients sont observés, tels que la possibilité de pertes d'éléments volatils (par exemple As, Cd, Hg, Pb), la contamination due à l'environnement inapproprié du four à moufle pour l'analyse des traces et également les pertes dues à la rétention des analytes dans la fraction des cendres ou par projection de l'échantillon à l'extérieur du creuset lors du chauffage [40].

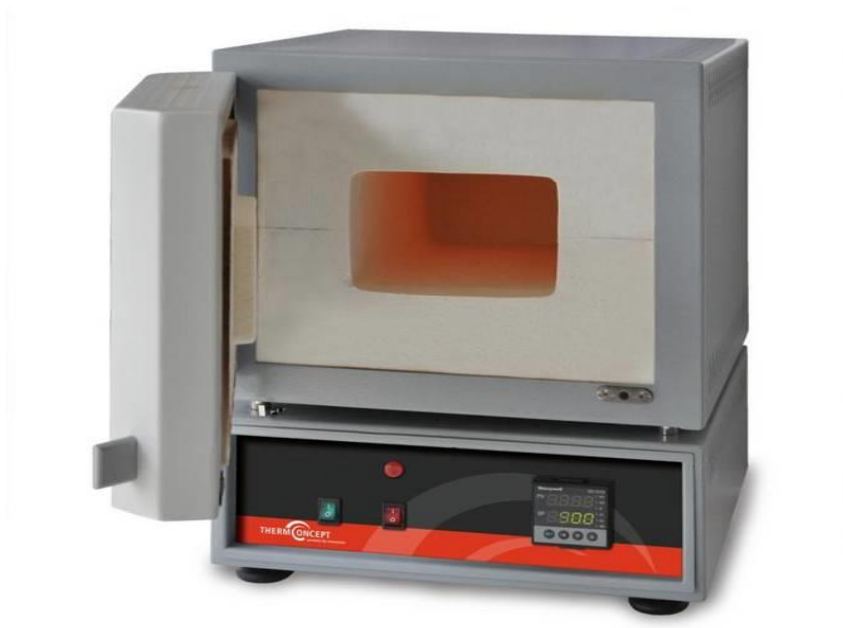


Figure 12: Four à moufle pour la combustion des échantillons



Figure 13: creuset en porcelaine

1.3.2. La combustion induite par micro-ondes

Afin de minimiser les inconvénients actuellement constatés pour les systèmes de combustion utilisant des récipients ouverts, une technique basée sur la combustion induite par micro-ondes (MIC) a été récemment proposée. Cette technique implique la combustion d'échantillons organiques dans des récipients en quartz fermés sous pression d'oxygène, et le chauffage est effectué par rayonnement micro-ondes [39]. L'équipement est le même que celui utilisé classiquement pour la digestion humide assistée par micro-ondes avec un minimum de changements. Cette technique permet de combiner les avantages des techniques de combustion classiques avec ceux utilisant des systèmes fermés conventionnels chauffés par rayonnement micro-ondes. Dans ce système, un petit porte-quartz est placé à l'intérieur d'un récipient en quartz contenant une solution absorbante appropriée (figure 14).

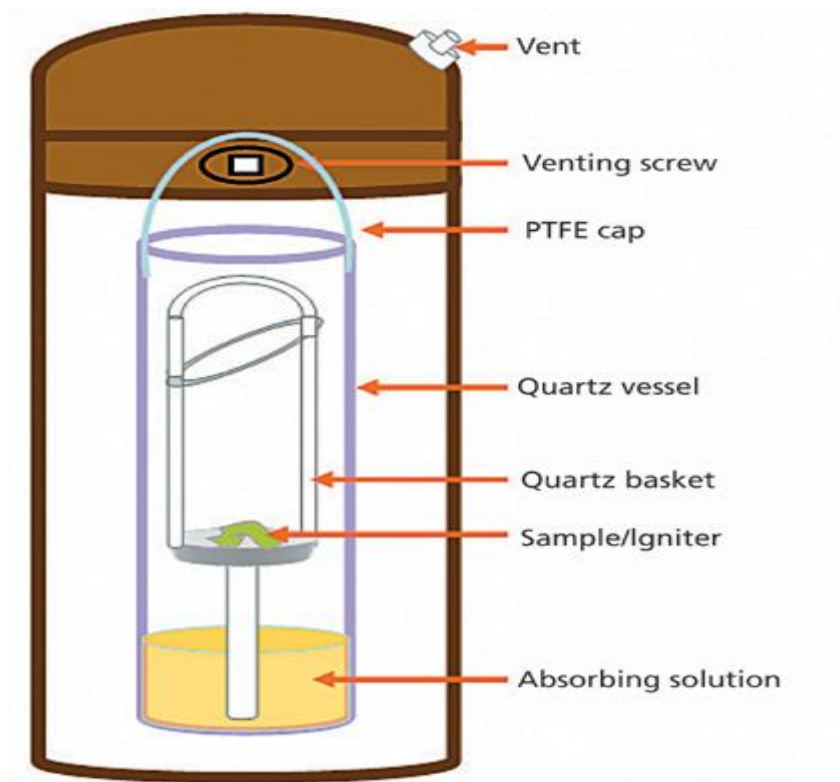


Figure 14: appareillage simplifié d'un système de combustion induite par micro-ondes

- Principe de fonctionnement de la combustion induite par micro-ondes des échantillons solides :

Les échantillons solides à examiner sont d'abord comprimés sous forme de pastilles et ainsi placés sur un filtre en papier spécialement imprégné qui se trouve dans des supports d'échantillon spéciaux en quartz (figure15). Les supports d'échantillon sont insérés au moyen d'un crochet également en quartz dans les récipients à réaction qui sont remplis de la solution absorbante appropriée (figure 14). Résistants à la pression, ces récipients à réaction aussi employés pour réaliser la minéralisation sous pression par voie chimique humide sont composés de quartz et fermés par un joint d'étanchéité à lèvres élaboré à base de PTFE-TFM (polytétrafluoroéthylène - tétrafluorométhoxylate) très pur. Ces deux matériaux garantissent la pureté et l'inertie chimique qui sont absolument requises par l'analyse de traces minutieuse [41].

Après que les récipients ont été fermés et placés dans le rotor, ce dernier est également fermé. Ils sont alors remplis d'oxygène à une pression de 20 bars à l'aide du système de remplissage usuel des récipients à réaction. Cette opération s'effectue au moyen d'un propre poste de remplissage qui peut être raccordé simplement à des bouteilles de gaz ou à la conduite d'alimentation en oxygène aménagée dans le laboratoire. Contrairement à la combustion classique, l'inflammation est déclenchée par l'émission de micro-ondes. Le filtre en papier disposé à l'intérieur du tube à réaction s'enflamme, ce qui provoque la combustion de l'échantillon sous atmosphère d'oxygène à haute pression.

Durant la combustion, la matrice organique est détruite et les substances à analyser (analytes) sont dégagées dans la phase gazeuse, avant d'être recueillies dans la substance absorbante. Les métaux sont absorbés de préférence dans des acides dilués. Les solutions peuvent être employées en général directement dans l'analyse sans phase de dilution additionnelle.

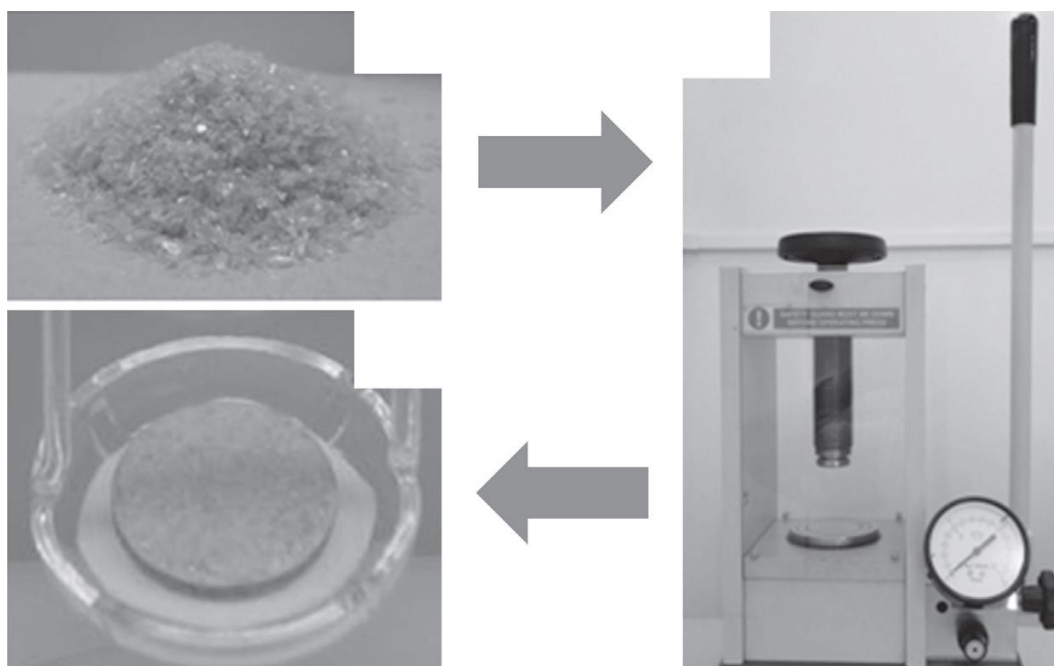


Figure 15: Procédure de granulation des échantillons solides pour une digestion ultérieure par combustion induite par micro-ondes [39]

2. Les méthodes analytiques instrumentales de détermination de la teneur des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutique

En février 2017, de nouvelles procédures d'analyse des impuretés élémentaires dans les produits et les ingrédients pharmaceutiques ont été établies. Les tests chimiques et colorimétriques, tels que ceux décrits dans le chapitre 2.4.8 de la pharmacopée européenne sur les métaux lourds et le chapitre général «231» de l'USP ont été remplacés par des méthodes instrumentales permettant de mesurer de manière spécifique et quantitative chaque impureté élémentaire dans les médicaments et dans leurs matières premières [42].

Le chapitre USP «233» recommande l'usage de techniques instrumentales modernes telles que les techniques instrumentales basées sur l'ICP (ICP-MS et ICP-AES) pour remplacer le test colorimétrique. L'utilisation de ses deux techniques est décrite dans deux procédures:

- La procédure 1 peut être utilisée pour les impuretés élémentaires généralement susceptibles d'être détectées par ICP-AES,
- La procédure 2 peut être utilisée pour les impuretés élémentaires généralement susceptibles d'être détectées par ICP-MS.

Selon l'EMA, les résidus métalliques sont généralement déterminés à l'aide de techniques telles que l'absorption atomique ou les techniques analytiques basées sur l'ICP.

L'ICH stipule qu'« il convient de suivre les méthodes décrites dans les pharmacopées ou d'autres méthodes convenables pour déterminer les concentrations des impuretés élémentaires. Donc il préconise l'utilisation de méthodes d'analyse quantitative pour un dosage quantitatif des impuretés élémentaires à la place d'une vérification de teneur limite.

D'autres méthodes d'analyse instrumentales alternatives peuvent être utilisées à condition qu'il puisse être démontré qu'elles répondent aux exigences de performance et de validation analytique définies dans le chapitre «233» de l'USP et dans la ligne directrice Q2(R1) de l'ICH.

2.1. Les méthodes analytiques instrumentales basées sur l'ICP :

Un plasma est un gaz électriquement neutre dont les espèces, atomes ou molécules, sont excités et/ou ionisés. Ils sont générés à haute température entre 7000 K et 15000 K [43]. Dans une enceinte confinée, dans laquelle on injecte un gaz plasmagène, on peut générer un plasma en transférant de l'énergie à ce gaz par l'action d'une décharge électrique. Grâce à l'action de la décharge électrique on a une conversion rapide de l'énergie électrique en énergie cinétique, puis en énergie d'excitation et d'ionisation des atomes et des molécules. Le gaz le plus utilisé pour des raisons de coût, d'ionisation et de conductivité thermique est l'Argon. La décharge électrique s'obtient de diverses manières :

- Plasma par courant direct (*DCP : direct current plasma*): on génère un arc électrique entre deux électrodes sous atmosphère d'argon, le gaz est ionisé et génère un plasma (figure 16).

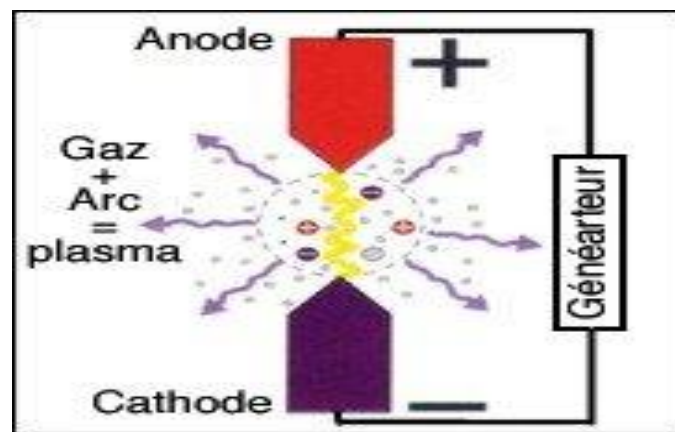


Figure 16: schéma simplifié du principe de génération d'un plasma par courant direct (DCP)

- Plasma micro-onde induit (*MIP : microwave induced plasma*) : On génère le plasma par micro-ondes qui vont engendrer des oscillations des atomes de gaz et donc un chauffage et une ionisation des atomes (collisions) (figure 17).

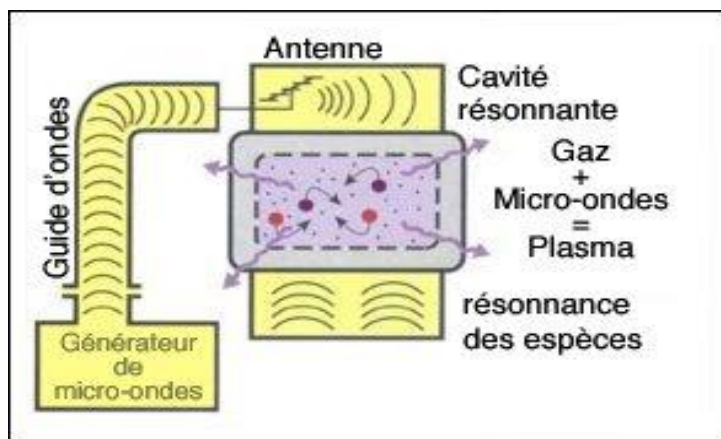


Figure 17: schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma micro-onde induit (MIP)

- Plasma par couplage inductif (*ICP : inductively coupled plasma*): C'est la méthode la plus utilisée en chimie analytique. Le plasma est généré dans une torche qui comporte trois tubes en quartz coaxiaux (figure 18). Comme principe de fonctionnement, Une bobine d'induction dans le haut de la torche est parcourue par un courant alternatif à haute fréquence (entre 5 et 100 MHz). Un flux d'argon tangentiel (tube externe) va permettre d'isoler, de refroidir la région proche des bobines et de donner la forme au plasma. Le gaz plasmagène est introduit dans le tube intermédiaire ce qui permet d'éviter tout contact proche de la bobine. L'ionisation de ce gaz est amorcée par une décharge électrique dans le bas de la torche. Puis les ions créés interagissent avec le champ magnétique (trajectoire circulaire) au niveau de la bobine d'induction ce qui crée des chocs et augmente la température (effet Joule) et maintient l'état de plasma (ionisation).

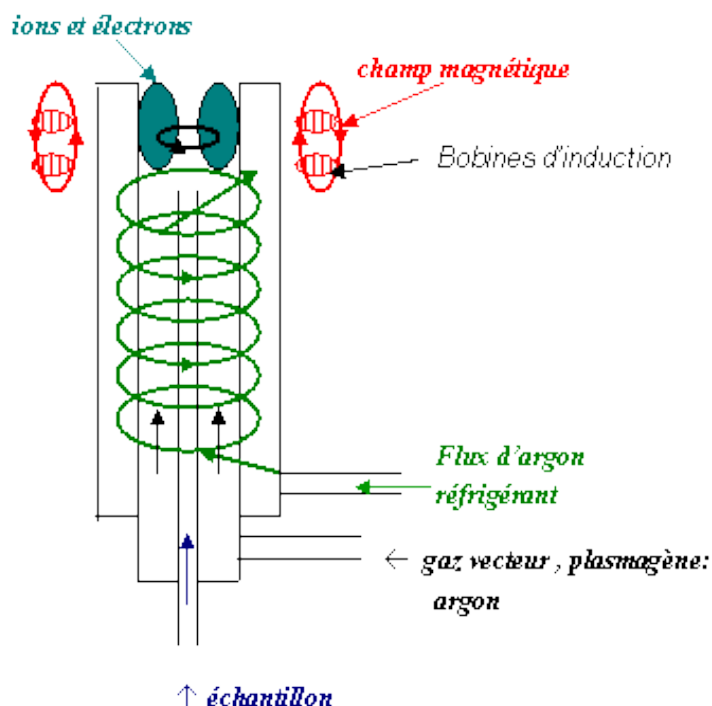


Figure 18: schéma simplifié d'un système de génération d'un plasma à couplage inductif

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

2.1.1. La spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)

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

Technique d'analyse élémentaire, la spectrométrie de masse (Mass Spectrometry, MS) atomique porte sur des atomes ionisés qu'elle différencie selon le rapport m/z de leur masse m à leur charge z , qui déterminent leurs mouvements au sein de champs électriques ou magnétiques. Pour une même charge (en principe égale à $+1$), les isotopes d'un même élément, différant par leurs masses, seront séparés, alors que des isotopes d'éléments différents ayant même nombre de nucléons et donc sensiblement même masse (isobares) ne le seront pas. À une charge doublée correspondra une masse apparente m/z qui constituera un artefact d'isobare [44].

L'un des modes d'ionisation atomique les plus pratiques et efficaces est l'injection en plasma couplé par induction (Inductively coupled Plasma, ICP). Ce milieu presque totalement ionisé se forme grâce aux chocs que subissent, avec les électrons déjà arrachés, les atomes d'un gaz, dit plasmagène, en général de l'argon, sous l'action d'un rayonnement électromagnétique intense (de puissance proche de 1 500 W) et de haute fréquence (HF, ordinairement 27, 12 ou 40, 68 MHz). Ainsi la torche à plasma, dont la température se situe entre 5 000 K et 8 000 K [45], permet d'ioniser la quasi-totalité des éléments et son association à un spectromètre de masse constitue une technique d'analyse qualitative et quantitative multi-élémentaire dite Spectrométrie de Masse à Plasma Couplé par Induction, abrégée en ICP-MS.

Les couplages ICP-MS les plus fréquents associent à l'ICP des spectromètres de masse quadripolaires (figure 19), très sensibles et relativement économiques. Mais leur pouvoir discriminant est assez faible, de l'ordre de 0,5 unité de masse atomique, de sorte que leur résolution n'excède pas 500. On utilise aussi des spectromètres de masse à secteur magnétique à double focalisation (figure 29). Ces derniers sont susceptibles d'atteindre de hautes résolutions, pouvant dépasser 5 000, de différencier ainsi jusqu'au centième d'unité de masse atomique et d'avoir une grande précision. Ils peuvent cependant être moins sensibles et moins rapides [46].

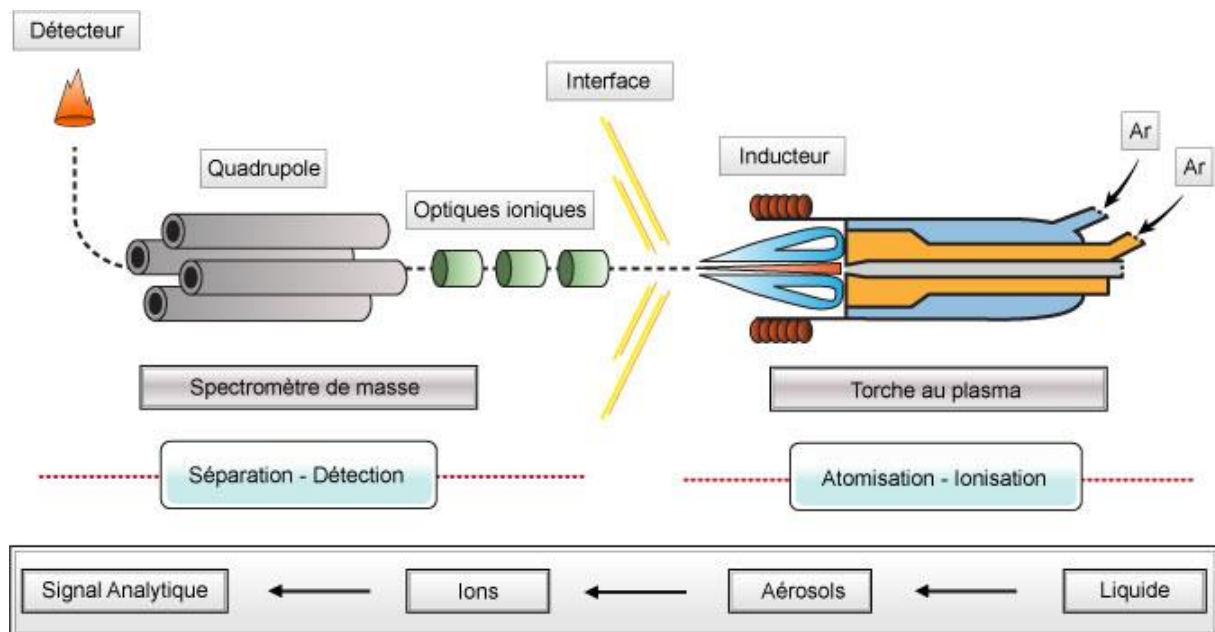


Figure 19: Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse quadripolaire couplé à l'ICP

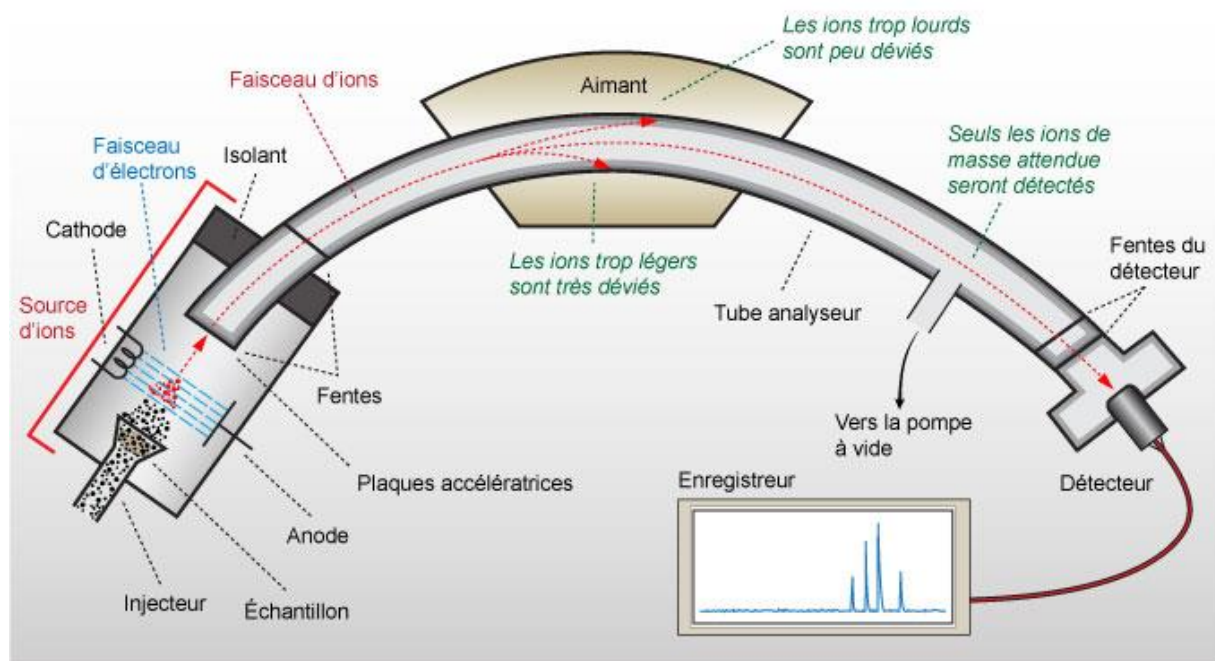


Figure 20: Schéma de l'appareillage d'un spectromètre de masse à secteur magnétique [46]

• Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse quadripolaire à plasma à couplage inductif :

L'analyse des échantillons par ICP-MS peut être divisée en quatre étapes : introduction-nébulisation, ionisation, séparation en masse, détection [45].

L'échantillon est mis en solution. Un passeur automatique d'échantillons couplé à une pompe péristaltique introduit la solution dans une chambre de vaporisation où le nébuliseur la transforme en un aérosol liquide composé de micro-gouttelettes de quelques μm à l'aide d'argon gazeux. L'aérosol ainsi formé est envoyé dans une torche à plasma d'argon à très haute température suffisante pour vaporiser, dissocier, atomiser et ioniser complètement la plupart des éléments. Une partie de ce plasma (10%) est échantillonnée par un premier orifice de 1 mm de diamètre environ au sommet d'un cône en nickel ou en platine (« le sampler »), puis se détend sous l'effet du vide modéré (1-2 mbar) qui règne dans une chambre de pompage différentiel (qui permet de passer de la pression atmosphérique au vide secondaire du spectromètre de masse) et passe ensuite dans un deuxième orifice (« le skimmer »). Un système de vide différentiel accélère les ions du plasma vers un ensemble de lentilles électrostatiques qui extrait les ions chargés positivement et les transporte vers un filtre de masse quadripolaire. Cet ensemble de lentilles est aussi appelé lentille ionique.

Ce filtre de masse transmet seulement les ions présentant un rapport masse sur charge particulier, déterminé en fonction de la fréquence appliquée au quadripôle. Le principe du spectromètre est basé sur la séparation des éléments en fonction de leur charge et de leur masse. Les quatre barres cylindriques qui composent le spectromètre sont séparées en deux paires opposées et soumises à un courant continu et alternatif. Les deux paires ont des tensions continues opposées et des tensions alternatives de même amplitude et de signe opposé. Dans le plan formé par la paire positive les ions légers sont trop déviés et heurtent les barres. L'ion à analyser et ceux ayant une masse supérieure restent entre les deux barres. Dans ce plan le quadripôle joue le rôle de filtre passe-haut. Dans le plan de la paire négative, ce sont les ions lourds qui sont déviés, ce qui équivaut à un filtre passe-bas. En combinant ces deux filtres, seuls les ions ayant le rapport m/z (masse/charge) désiré seront transmis au détecteur.

La partie détection s'effectue grâce à un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes. Pour la détection des ions positifs, une série de dynodes est soumise à une tension négative de quelques milliers de volts. L'extrémité de la série de dynodes est reliée à la terre. A la sortie du quadripôle, un ion positif, attiré par la tension négative, heurte la surface semi-conductrice de la première dynode. Cet ion positif provoque l'émission d'un ou de plusieurs électrons secondaires qui heurtent à nouveau la paroi de la deuxième dynode : un effet « boule de neige » se produit. A l'extrémité de la série de dynodes, pour un ion qui heurte le détecteur, environ 100 électrons atteignent un collecteur équipé d'un préamplificateur. Le signal se traduit en nombre d'impulsions (nombre de coups), une interface informatique assure le transfert des données afin qu'elles soient traitées. Pour un isotope donné, le nombre d'ions mesuré permet de calculer directement la concentration de l'élément analysé grâce à un logiciel de traitement quantitatif et qualitatif de l'enregistrement. Les nombres de coups sont convertis en concentrations grâce à l'utilisation de deux types de calibrations : externe (solutions étalon) et interne (spikes).

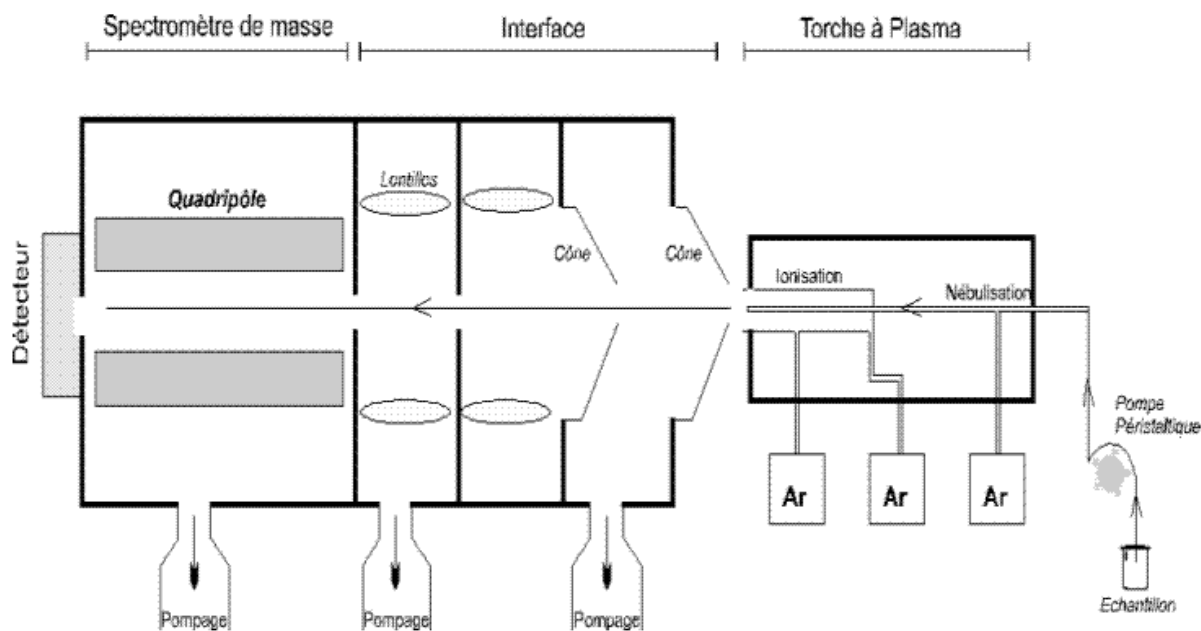


Figure 21: Schéma du principe de fonctionnement de l'ICP-MS quadripolaire

• Avantages et inconvénients :

Sans qu'elle leur soit supérieure à tous égards et pour toutes les impuretés élémentaires, les raisons du succès de l'ICP-MS sont :

- ✓ Sa très large gamme d'applications (presque tous les éléments, les exceptions étant les non-métaux stricts et les gaz rares) ;
- ✓ Sa très bonne reproductibilité, les dérives ou fluctuations dues au plasma étant corrigées par l'introduction systématique d'éléments étalons internes non interférents ;
- ✓ Sa rapidité (en série, le temps d'analyse pouvant atteindre 1 à 2 min par échantillon), ce qui autorise par exemple les méthodes d'ajouts dosés en série, aussi bien que les couplages avec des appareils de chromatographie ou d'électrophorèse ;
- ✓ Sa spécificité ;
- ✓ Sa très haute sensibilité (allant jusqu'au ng/L et même au-delà), qui dans bien des cas permet d'opérer sur des échantillons de faible volume dont la préparation se réduit à une simple dilution préliminaire en milieu acide nitrique, ce qui peut suffire à éliminer les effets de matrice si la dilution est très haute ;
- ✓ Son exceptionnelle gamme dynamique linéaire (10^8 voire 10^9) en mesures d'intensités ou en comptage d'ions.

A ces qualités s'ajoute la possibilité de mesure de rapports d'abondances isotopiques, difficilement accessibles par les spectrométries optiques (presque uniquement en Infrarouge) mais extrêmement utiles dans nombre de domaines comme celui du contrôle qualité pharmaceutique.

Les Inconvénients majeurs à l'utilisation de l'ICP-MS sont actuellement d'ordre financier, même pour les systèmes à faible résolution. L'appareillage est un investissement coûteux à l'achat et son utilisation est onéreuse, car il est gros consommateur d'argon ultra-pur et d'électricité. En outre, son installation demande un local adapté, si possible muni d'une hotte à flux laminaire, et la présence d'appareillages annexes fonctions des utilisations prévues, tels que digesteur à micro-ondes ou système d'ablation laser. En plus son fonctionnement nécessite du personnel qualifié.

• Application à l'analyse de la teneur des impuretés élémentaires :

L'ICP-MS est une technique puissante et sensible qui fournit une analyse fiable à l'état de trace des 24 éléments dont les limites sont définies dans le chapitre «232» de l'USP [26]. Les faibles limites de détection de l'ICP-MS garantissent que tous les éléments réglementés des substances médicamenteuses ou des produits médicamenteux peuvent être facilement déterminés. Ainsi, l'ICP-MS a été utilisé avec succès pour déterminer les impuretés de Pt, Pd et Rh dans les produits pharmaceutiques avec des limites de détection de 15, 2,8, 2,5 ng / g pour le Pd dans maléate d'énalapril, Pt dans le folinate de calcium et Rh dans la lévodopa, respectivement [47]. Wang et al. [48] ont identifié les limites de l'essai colorimétrique traditionnel des métaux lourds par rapport à l'ICP-MS pour l'analyse de trace des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques et l'ont recommandé comme alternative au «test limite des métaux lourds. Murty et al. [49] ont déterminé des teneurs en métaux lourds dans les médicaments dicyclomine HCl, éthambutol, pyrazinamide et furazolidone par ICP-MS.

2.1.2. La spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) :

Comme son nom l'indique, la spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) est une technique qui utilise un plasma comme source et s'appuie sur l'émission optique pour l'analyse. Cependant, contrairement à de nombreux autres spectromètres, l'échantillon n'est pas simplement placé entre la source et le détecteur. L'ICP-AES est principalement utilisé pour les échantillons liquides, qui doivent d'abord être transformés en aérosol puis injectés dans le plasma. Les échantillons solides peuvent être directement analysés si un moyen de vaporisation est disponible, par exemple l'ablation au laser (LA-ICP-AES) ou la vaporisation électrothermique (ETV). Les températures élevées dans le plasma sont suffisantes pour décomposer l'échantillon en atomes et fournir l'énergie pour l'ionisation et l'excitation.

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

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

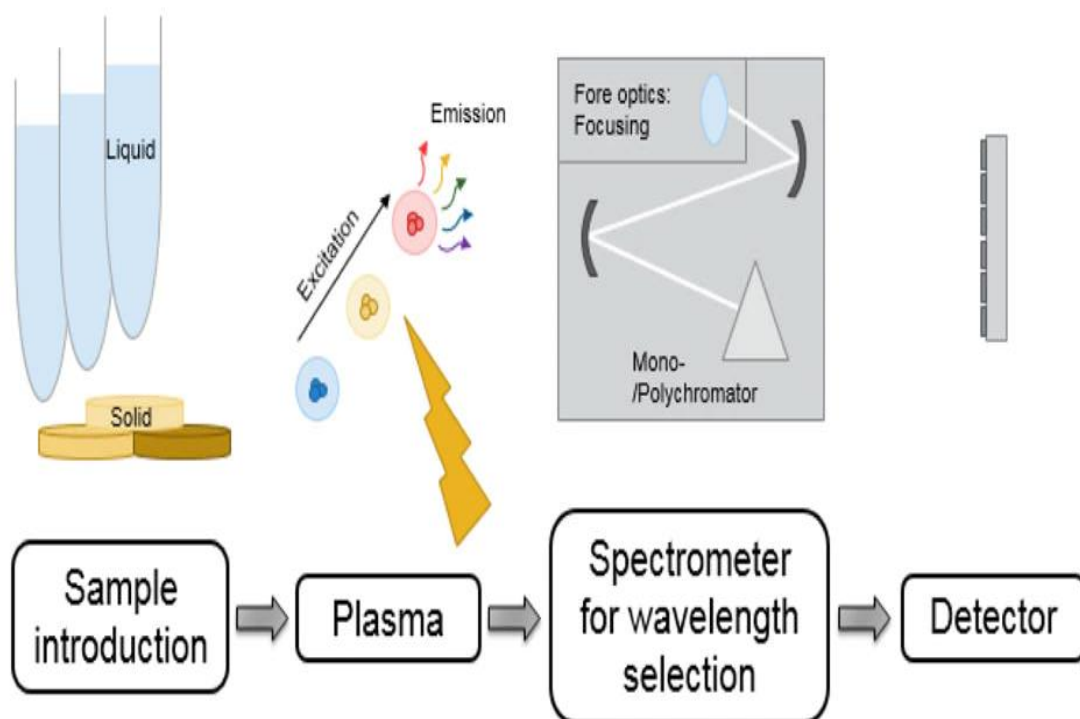


Figure 22: Schéma de l'appareillage d'un ICP-AES

• **Principe :**

Les échantillons solides sont généralement dissous ou digérés à l'aide d'une combinaison d'acides dans un système à micro-ondes fermé, ce qui permet de conserver les éléments potentiellement volatils. La solution échantillon résultante est ensuite nébulisée dans le cœur d'un plasma d'argon couplé par induction, où des températures d'environ 9000 K sont atteintes. À de telles températures élevées, la solution nébulisée est vaporisée et les espèces à

analyser sont atomisées, ionisées et excitées thermiquement. Les espèces à analyser peuvent ensuite être détectées et quantifiées à l'aide d'un spectromètre à émission atomique, qui mesure l'intensité du rayonnement émis à la longueur d'onde caractéristique de l'élément, à partir d'atomes ou d'ions excités thermiquement. Les mesures d'intensité sont converties en concentration élémentaire par comparaison avec des étalons d'étalonnage [50].

2.1.3. La spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

La spectrométrie d'absorption atomique est une méthode de dosage d'éléments chimiques fondée sur l'absorption des radiations atomiques en phase vapeur. Bien que cette technique date du XIX^e siècle, sa forme moderne fut développée dans les années 1950 par des chimistes australiens, menés par Alan Walsh. Cette technique se base sur l'absorption de la radiation monochromatique par un nuage d'atomes. Les atomes dans l'état fondamental absorbent l'énergie dans une certaine longueur d'onde produite par une source composée par les mêmes atomes à être analysé à partir d'une source (lampe avec cathode creuse). Cette source produit une radiation électromagnétique intense avec une longueur d'onde similaire à celle absorbée par les atomes. La sensibilité de cette technique est proportionnelle au nombre d'atomes à l'état fondamental. Les composants de base d'un instrument d'absorption atomique sont dans la figure suivante.

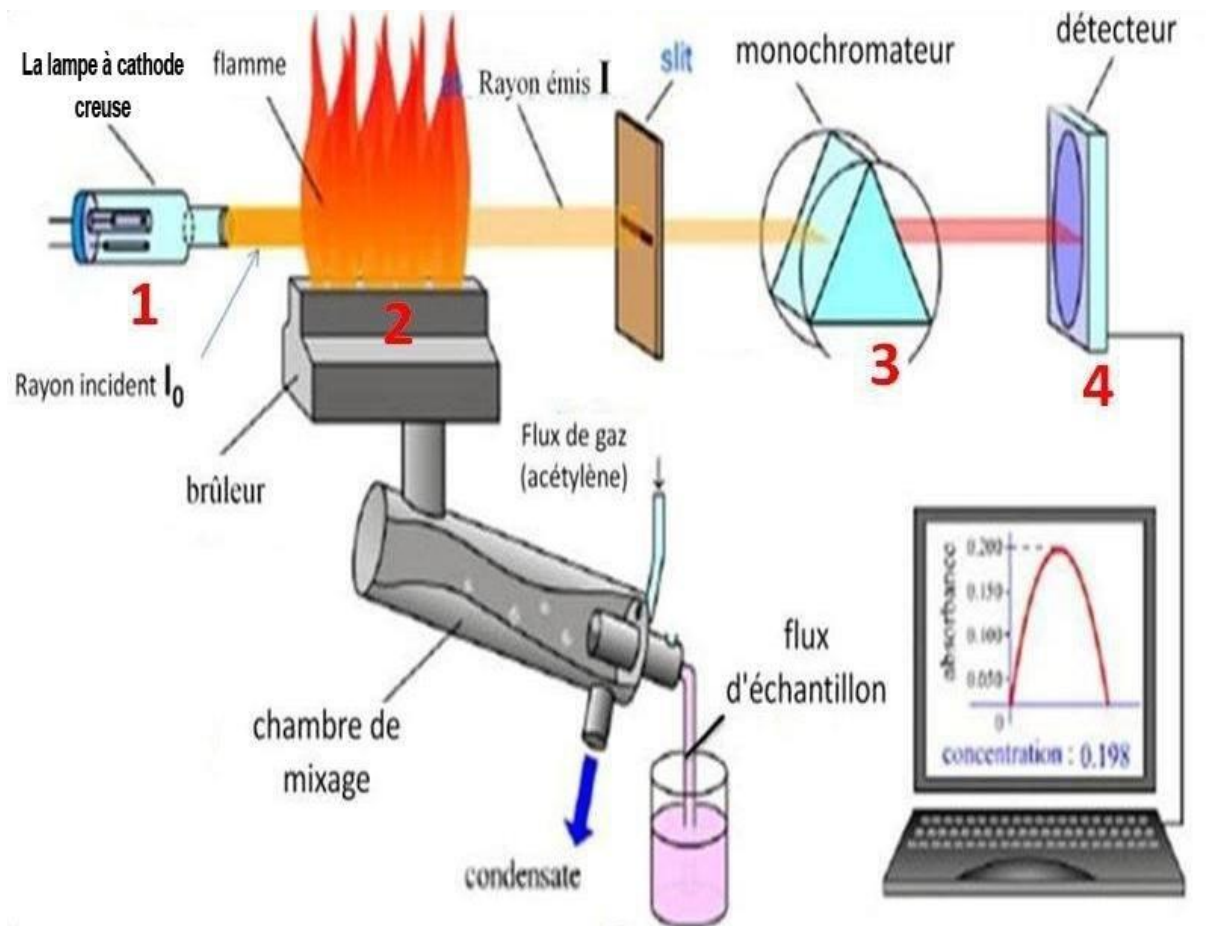


Figure 23: Schéma de l'instrumentation de base d'une spectrométrie d'absorption atomique à flamme

• **Instrumentation de base :**

Le dispositif expérimental utilisé en absorption atomique se compose d'une source de radiation monochromatique (la lampe à cathode creuse), d'un brûleur et un nébuliseur, d'un monochromateur et d'un détecteur relié à un amplificateur et un dispositif d'acquisition.

1) La lampe à cathode creuse :

La lampe à cathode creuse (figure 24) est constituée par une enveloppe de verre scellée et pourvue d'une fenêtre en verre ou en quartz contenant une cathode creuse cylindrique et une anode. La cathode est constituée de l'élément que l'on veut doser. Un vide poussé est réalisé à l'intérieur de l'ampoule qui est ensuite remplie d'un gaz rare (argon ou néon) sous une pression de quelques mm de Hg.

Lorsqu'on applique une différence de potentiel de quelques centaines de volts entre les deux électrodes, une décharge s'établit. Le gaz rare est alors ionisé et ces ions bombardent alors la cathode, arrachant des atomes à celle-ci. Ces atomes sont donc libres et sont excités par chocs : il y a émission atomique de l'élément constituant la cathode creuse. La particularité du rayonnement ainsi émis est qu'il est constitué de raies très intenses et très fines.

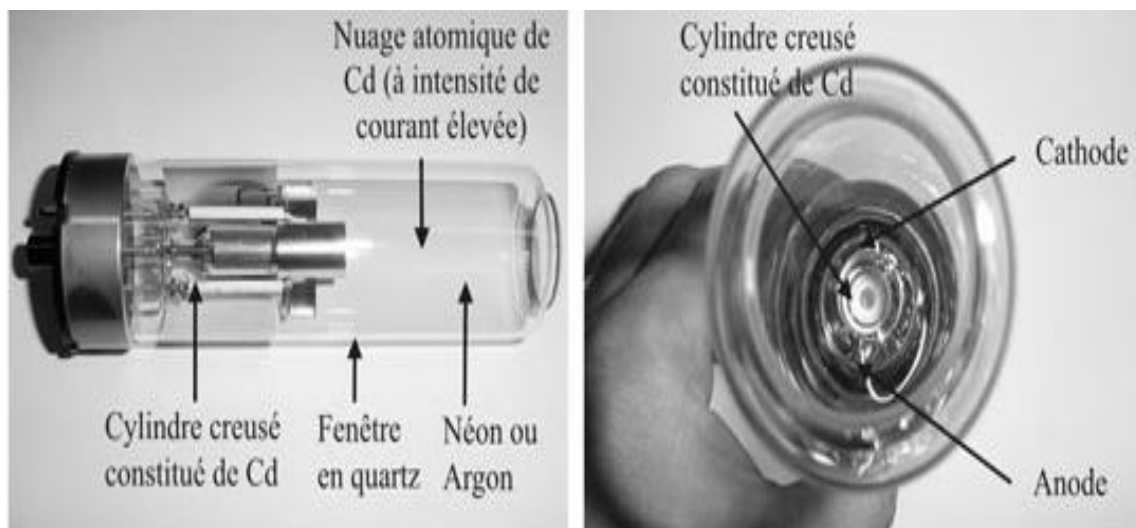


Figure 24: Les différents composants d'une lampe à cathode creuse (l'exemple d'une lampe de Cd)

2) Le nébuliseur :

L'échantillon à analyser est en solution. Celle-ci est aspirée au moyen d'un capillaire par le nébuliseur. A l'orifice du nébuliseur, du fait de l'éjection d'un gaz à grande vitesse, il se crée une dépression (effet Venturi). La solution d'analyse est alors aspirée dans le capillaire et à la sortie, elle est pulvérisée en un aérosol constitué de fines gouttelettes. Cet aérosol pénètre

alors dans la chambre de nébulisation dont le rôle est de faire éclater les gouttelettes et d'éliminer les plus grosses. Ce brouillard homogène pénètre alors dans le brûleur.

3) Le brûleur :

L'aérosol pénètre dans le brûleur puis dans la flamme. Au bout d'un certain parcours au seuil de la flamme, le solvant de la gouttelette est éliminé, il reste les sels ou particules solides qui sont alors fondus, vaporisés puis atomisés. La flamme air acétylène est la plus répandue et permet de réaliser le dosage de nombreux éléments. Sa température est de 2500°C environ. A la place d'une flamme, on peut également utiliser un four cylindrique en graphite (GF-AAS) pour atomiser l'échantillon ou un système de génération de vapeurs froides (CV-AAS).

4) Le monochromateur :

La lumière qui quitte la source n'est pas monochromatique. On obtient un spectre de raies contenant :

- Les raies de l'élément à doser,
- Les raies du gaz de remplissage dans la source,
- Les raies d'éventuelles impuretés,
- Les raies de l'atomiseur (flamme).

Le rôle du monochromateur consiste à éliminer toute la lumière, quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille.

5) Le détecteur :

Le faisceau arrive ensuite sur le détecteur. Ce dernier mesure les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances. Il est relié à un amplificateur et un dispositif d'acquisition. On détermine :

$$\text{Absorbance spécifique} = \text{Absorbance totale} - \text{Absorbance non spécifique}$$

L'absorption spécifique est due à l'élément à doser (sur une raie). L'absorption non spécifique est due à l'absorption continue de la matrice.

• Principe :

L'absorption atomique est une méthode qui permet de doser essentiellement les métaux en solution. Cette méthode d'analyse élémentaire impose que la mesure soit faite à partir d'un analyte (élément à doser) transformé à l'état d'atomes libres. L'échantillon est porté à une température de 2000 à 3000 degrés pour que les combinaisons chimiques dans lesquelles les éléments sont engagés soient détruites. La spectrométrie d'absorption atomique est basée sur la théorie de la quantification de l'énergie de l'atome. Celui-ci voit son énergie varier au cours d'un passage d'un de ses électrons d'une orbite électronique à une autre (figure 25):

$\Delta E = h\nu$ où h est la constante de Planck et ν est la fréquence du photon absorbé.

Généralement seuls les électrons externes de l'atome sont concernés.

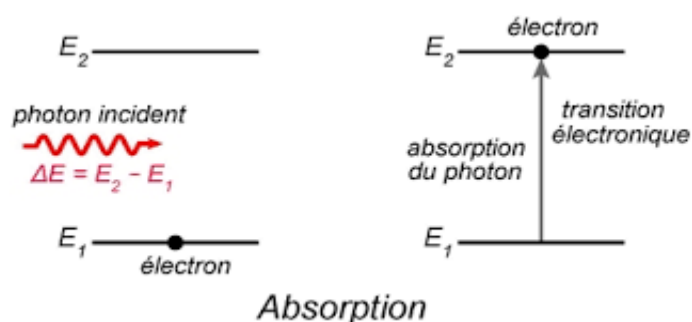


Figure 25: Absorption d'un photon

Les photons absorbés étant caractéristiques des éléments absorbants, et leur quantité étant proportionnelle au nombre d'atomes d'élément absorbant selon la loi de distribution de Boltzmann, l'absorption permet de mesurer les concentrations des éléments à doser. L'analyse par absorption atomique utilise la loi de Beer- Lambert. S'il y a plusieurs éléments à doser, on réalise cette manipulation pour chaque élément de l'échantillon en se plaçant à une longueur d'onde fixée. Il faut donc à chaque manipulation choisir une lampe à cathode creuse adaptée pour éclairer l'élément que l'on cherche à exciter.

En pratique, la solution contenant l'élément à doser est aspirée à travers un capillaire et dirigée vers le nébuliseur. Elle est ensuite pulvérisée à très grande vitesse à travers une chambre où s'éliminent les grosses gouttes grâce à une bille brise-jet. La solution ainsi vaporisée est entraînée par le combustible à travers le brûleur à la sortie duquel a lieu la

combustion. Après dissociation thermique dans la flamme, les radiations incidentes qui sont fournies par une lampe à cathode creuse qui émet le spectre de l'élément que l'on veut doser sont absorbées. La mesure de cette absorption permet de déterminer la concentration de l'élément à doser.

• Application de l'absorption atomique dans l'analyse des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques:

La spectrophotométrie d'absorption atomique est essentiellement une méthode d'analyse quantitative qui convient beaucoup mieux à la détermination des traces qu'à celle des composants majeurs. Les techniques de spectrométrie d'absorption atomique sont des méthodes sélectives et sensibles pour la détermination quantitative des métaux et métalloïdes. Ils sont couramment utilisés pour la détection et la détermination des métaux employés comme catalyseurs (par exemple Pd, Ni, Pt, Rh) dans la synthèse de produits pharmaceutiques ou d'impuretés métalliques, par exemple Fe, Cr pouvant provenir de cuves de réaction en acier inoxydable [51]. Elles répondent aux exigences de sensibilité et de sélectivité des tests sur les métaux lourds des pharmacopées européenne et américaine.

La spectrométrie d'absorption atomique flamme (F-AAS) est une technique analytique largement acceptée pour la détermination des métaux au niveau $\mu\text{g/ml}$ et en dessous dans différents types de matériaux, y compris les produits pharmaceutiques et les médicaments [52]. La spectrométrie d'absorption atomique par four graphite (GF-AAS) est une technique qui offre une meilleure sensibilité et implique l'injection d'une petite quantité de solution à analyser dans un petit four en graphite et convient donc à l'analyse des métaux à des niveaux ultra-traces (ng/ml). La spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) permet le dosage du mercure et certains éléments volatils comme As et Sb peuvent être mesurés comme leurs hydrures [53]. La F-AAS, la GF-AAS et la CV-AAS permettent une détermination fiable des impuretés élémentaires dans les opérations de contrôle qualité pharmaceutique.

2.1.4. La spectrométrie d'absorption atomique flamme (F-AAS) :

La spectrométrie d'absorption atomique flamme permet le dosage mono-élémentaire des plusieurs impuretés élémentaires de l'ordre du mg/L dans des échantillons liquides. Avec la F-AAS, le contact entre les atomes et la source lumineuse est assuré par la cellule d'absorption. Cette dernière est en fait une flamme générée par la combustion d'un mélange air/acétylène (2500°C) ou un mélange protoxyde d'azote/acétylène (3100°C) pour les éléments réfractaires (exemples : Al, Mo, Sr...). L'échantillon à analyser est aspiré par l'appareil et transformé en aérosol. La flamme atomise ensuite les éléments contenus dans l'aérosol qui passent à travers le faisceau de la lampe à cathode creuse, comme illustré au niveau de la figure 23.

D'une manière générale, la F-AAS est une technique robuste et simple d'utilisation. Il a une instrumentation à prix relativement modéré, une bonne exactitude et une précision adéquate (0,1–1%) pour la détermination de la plupart des impuretés élémentaires [54]. Malgré cela, elle présente l'inconvénient de ne pouvoir analyser qu'un élément à la fois.

2.1.5. Spectrométrie d'absorption atomique par four graphite (GF-AAS) :

La spectrométrie d'absorption atomique par four graphite (GF-AAS), aussi appelée spectrométrie d'absorption atomique électrothermique (ET-AAS) est une technique analytique utilisée pour l'analyse d'éléments chimiques. C'est une méthode utilisée pour l'étude quantitative de presque tous les métaux et métalloïdes et certains non métaux. Comme dans toutes les techniques de spectrométrie d'absorption atomique, l'instrumentation d'une GF-AAS comprend une source de raies (lampe), un atomiseur (ou chambre d'atomisation), un monochromateur et un détecteur.

Généralement, les atomiseurs présents en spectroscopie d'absorption atomique utilisent comme source d'énergie une flamme. Cependant, la GF-AAS est une méthode dite « sans flamme » mettant en jeu des tubes ou baguettes graphites chauffées électriquement. Le four (figure 26) est composé d'un cylindre creux en graphite avec des dimensions pouvant varier de 20 à 50 mm pour la longueur et de 3 à 9 mm pour le diamètre intérieur. Ce cylindre est

placé de sorte à avoir le faisceau incident dans l'axe du tube. Celui-ci est entouré d'une enveloppe métallique où l'eau circule. Un espace sépare le tube et son enveloppe dans lequel est envoyé un flux de gaz inerte. L'argon est généralement utilisé afin d'exclure l'oxygène et d'empêcher la combustion du graphite. Le gaz passe aussi au travers du tube par le biais d'orifices conçus à cet effet. Lorsque débute l'analyse, le flux d'argon est désactivé afin de maximiser le temps pendant lequel l'analyte se trouve dans le tube et donc la sensibilité. En plus de l'argon, des fenêtres en quartz isolantes sont placées de chaque côté du four afin d'empêcher l'entrée d'oxygène par le biais du chemin optique [55]. L'introduction de l'échantillon est effectuée au niveau du centre du tube de graphite au niveau des orifices de l'enveloppe et du tube. La GF-AAS est habituellement utilisée pour des échantillons liquides, mais elle peut aussi analyser des échantillons solides.

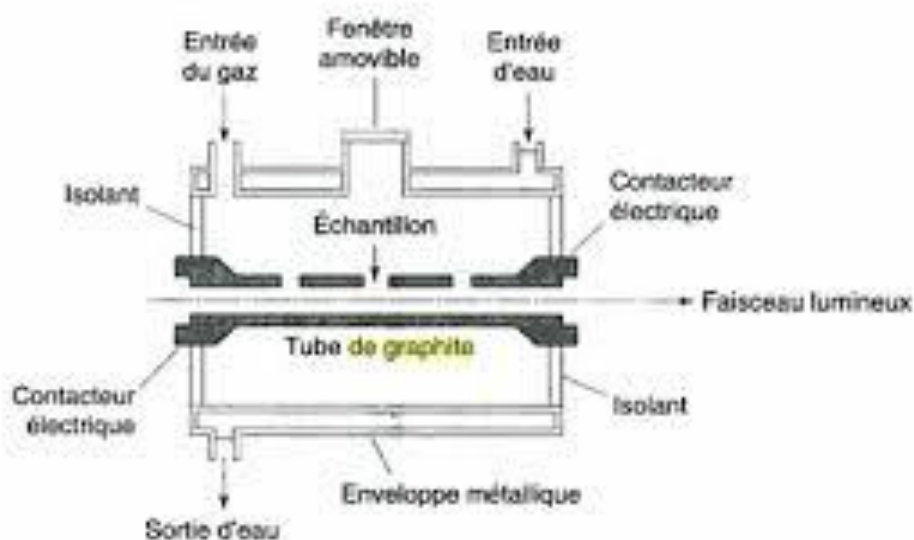


Figure 26: Schéma simplifié d'un four graphite

La spectrométrie d'absorption atomique électrothermique est un outil important pour la détermination précise de la teneur des impuretés élémentaires à l'état de traces dans les produits pharmaceutiques. De manière générale, cette technique est particulièrement utile lorsqu'une faible masse ou de faibles volumes (5–40 ml) sont disponibles, en raison de sa faible LOD ($< 5 \text{ mg/L}$), de sa précision (0,5–5%), de son exactitude et de sa sélectivité. C'est une technique très sensible et pour cette raison nécessite des réactifs d'une grande pureté pour

éviter les problèmes de blanc. La GF-AAS est une technique de choix par rapport à la F-AAS pour l'analyse des produits pharmaceutiques, en particulier parce qu'elle offre la possibilité d'une analyse directe d'échantillons solides [54].

Diverses méthodes spectrométriques ont été utilisées pour la détermination du palladium dans les substances médicamenteuses. La spectrométrie d'absorption atomique à four graphite (GFAAS) est une technique appropriée à cet effet. Il a amélioré les capacités de détection par rapport à la spectrométrie d'absorption atomique de flamme (FAAS). Wang et al. [56] ont développé une méthode Zeeman GFAAS simple, sensible, précise et relativement peu coûteuse pour la détermination du Pd dans deux matériaux médicamenteux, MK0476 et MK0462 et leurs intermédiaires synthétiques. Lévai et al. [51] ont employé une méthode directe GF-AAS avec correction du fond d'arc au deutérium pour la détermination du Pd dans le maléate d'énalapril, l'éthionamide, le chlorhydrate de térazosine et le chlorhydrate de fluoxétine. La GF-AAS a été utilisé pour déterminer les concentrations de plomb, de cadmium, de cuivre, d'arsenic et de mercure dans quatre échantillons de plantes médicinales chinoises avec des précisions inférieures à 2% [57]. La limite de détection du plomb, du cadmium, du cuivre, de l'arsenic et du mercure était de 0,28, 0,014, 0,49, 0,19 et 0,061 mg/L, respectivement.

2.1.6. La spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS)

La plupart des atomes pour l'analyse par spectroscopie atomique ne peuvent pas exister à l'état fondamental libre à température ambiante; par conséquent, les échantillons doivent être chauffés afin de libérer les atomes pour l'analyse. Cependant, le mercure, qui peut exister sous forme libre à température ambiante, fait exception [57]. Cette caractéristique unique du mercure permettant sa mesure sans chauffer l'échantillon et sans pré-vaporisation a été proposée par Poluektov, Vitkun et Zelyukova en 1963 et repose sur la CV-AAS [58]. Les techniques de génération de vapeur froide et d'hydrure sont utilisées le plus souvent pour la détermination du mercure ou pour certains éléments formant des hydrures tels que l'étain, l'arsenic, le sélénium, l'antimoine et le bismuth [27].

Dans cette technique, le mercure dans l'échantillon est d'abord réduit à l'état atomique libre par un agent réducteur puissant, tel que le borohydrure de sodium ou le chlorure stanneux. La vapeur de mercure est transportée vers une cellule d'absorption par un gaz vecteur et une lumière de 253,7 nm est absorbée par les atomes de mercure. L'argon est couramment utilisé comme gaz vecteur, mais peut également être remplacé par de l'azote ou de l'air. Le principe de l'analyse du mercure par génération de vapeur froide est matérialisé au niveau de la figure 27. Dans le cas des éléments formant des hydrures, une réaction avec du borohydrure de sodium et de l'acide chlorhydrique génère l'hydrure de l'analyte d'intérêt.

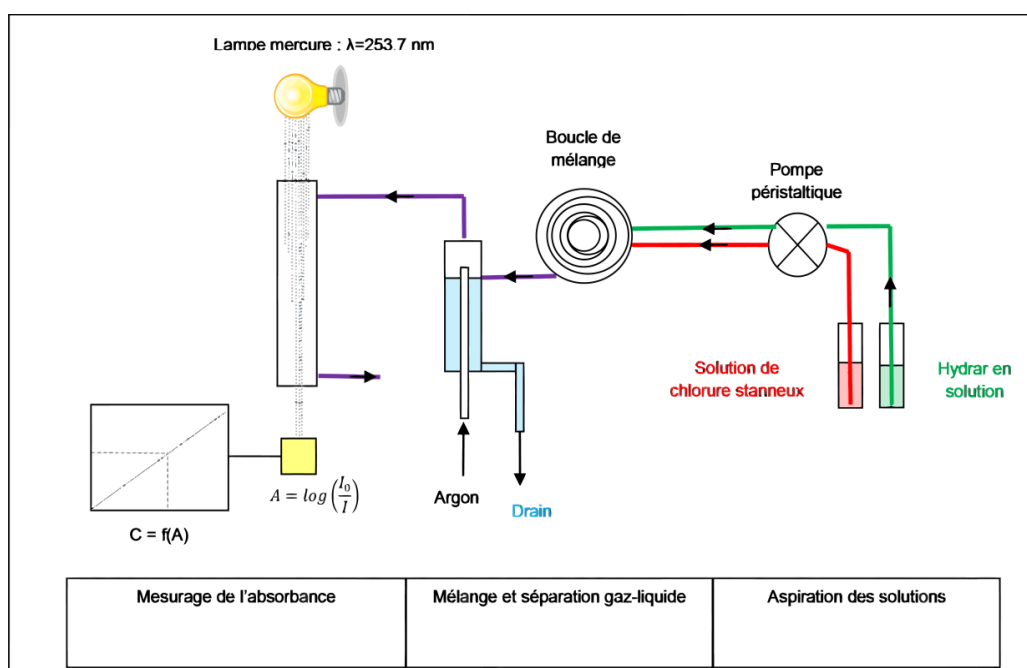


Figure 27: Schéma du principe de l'analyse du mercure par génération de vapeur froide par CV-AAS

La CV-AAS est particulièrement utile pour mesurer de faibles quantités de mercure et cette technique a été utilisée pour la détection du mercure par absorption à 254 nm (9 ng/ml - limite de détection) dans les produits pharmaceutiques [59]. Un avantage majeur de la vapeur froide-AAS est la séparation inhérente du mercure de la matrice.

2.2. La spectrométrie de fluorescence des rayons X (XRFS) :

La spectrométrie de fluorescence X est une technique d'analyse élémentaire globale permettant d'identifier et de déterminer la plupart des éléments chimiques qui composent un échantillon. Cette technique peut être utilisée pour des matériaux très variés : matières premières pharmaceutiques, céramiques, ciments, métaux, huiles, sous forme solide ou liquide. Ces derniers temps, l'analyse XRFS est devenue de plus en plus intéressante par rapport à d'autres techniques, notamment en raison de la facilité de préparation des échantillons. Les échantillons peuvent être sous forme solide, en poudre ou liquide. Puisqu'il s'agit d'une analyse sans contact, aucun problème tel que les effets de matrice couramment rencontrés dans l'analyse de solution n'est rencontré. En plus, comme il s'agit d'une technique non destructive, il est possible de réutiliser l'échantillon après les mesures.

• Principe :

La spectrométrie par fluorescence X ou XRFS (figure 28) est une technique analytique permettant d'obtenir des analyses qualitatives et quantitatives élémentaires. L'échantillon est bombardé par des photons émis d'un tube à rayon X. Des électrons appartenant aux couches internes des atomes sont alors éjectés. Il s'agit de la phase d'absorption du rayonnement primaire. Les atomes de la matière ainsi ionisés par leur électron 'manquant' se trouvent en état instable. Les couches internes de ces atomes se réorganisent afin de tendre vers un état plus stable. Les électrons des couches plus externes supérieures combleront les couches internes insaturées, il s'agit de la phase d'émission (faisceau de rayon X secondaire émis). Cette relaxation électronique libère une énergie sous la forme d'un photon caractéristique pour chaque atome et pour chaque transition de chaque atome. Ces photons peuvent être détectés par un compteur qui va permettre d'identifier l'atome en fonction de son énergie. Du flux de photons reçus, l'analyseur peut aussi déduire en temps réel la concentration correspondante. Lorsque les photons sont traités séquentiellement, il s'agit d'une analyse dispersive en énergie. D'une manière plus détaillée [60]:

- Chaque atome à l'état fondamental, stable, possède un nombre d'électrons qui lui est spécifique. Ces électrons gravitent selon des orbitales simplifiées dans le modèle de Bohr : K, L, M, N. Les transitions observées en spectrométrie X mettent en œuvre ces 4 orbitales de base.

- Lorsque les photons incidents provenant du faisceau primaire du tube à rayon X possèdent une énergie suffisante, ils parviennent à éjecter les électrons des orbitales des couches K, L ou M des atomes constitutifs de l'échantillon, ce qui crée une vacance et donc, un état excité instable. Un électron situé sur une orbitale plus externe peut alors combler cette lacune, l'atome tend alors vers un état 'moins instable'.

- Lorsque l'électron de l'orbital externe se déplace dans l'orbite interne, il libère de l'énergie sous la forme d'un photon à rayons X secondaire. Cette sortie d'énergie est appelée fluorescence. Tous les éléments produisent une fluorescence "caractéristique". La fluorescence de chaque atome est unique.

- Chaque photon issu de la réorganisation électronique peut être collecté par le détecteur. Il y génère un courant, qui est amplifié, converti en tension et numérisé dans un ADC (convertisseur analogique digital).

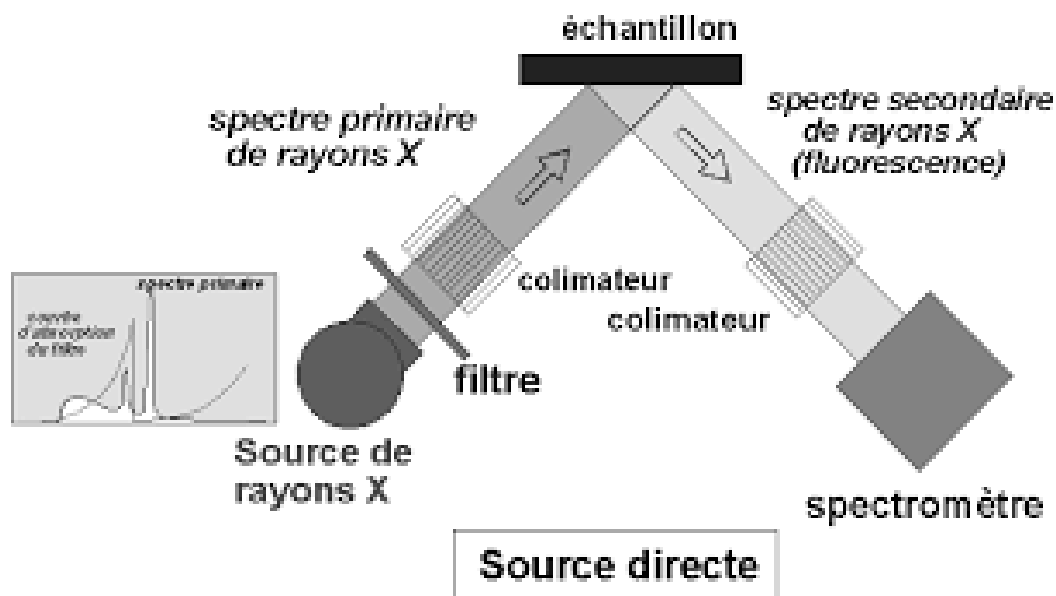


Figure 28: Schéma simplifié d'un spectromètre de fluorescence à rayons X à dispersion en énergie (XRFS)

2.2.1. Les spectromètres à dispersion en énergie (EDS)

Ces spectromètres (figure 28) utilisent la sensibilité de détecteurs à l'énergie des photons X émis par les atomes qui constituent l'échantillon à analyser. Il s'agit de détecteurs de type semi-conducteur (classiquement des détecteurs Si(Li) silicium dopé au lithium) ou de détecteurs au silicium à diffusion (Silicon Drift Detector, SDD) connectés à un amplificateur. Les photons X qui pénètrent dans le détecteur vont provoquer des ionisations dans le semi-conducteur, les paires électrons/trous vont migrer sous l'effet du champ électrique de polarisation et provoquer des impulsions de courant dont la hauteur est proportionnelle à l'énergie du photon. Le détecteur convertit les photons X en charge électrique et l'amplificateur transforme le signal en impulsion électrique. Plus le photon X incident aura une énergie élevée, plus il créera de défauts dans le semi-conducteur et plus l'amplitude de l'impulsion électrique sera grande. Ainsi l'amplitude des impulsions est directement proportionnelle à l'énergie du photon X pénétrant dans le détecteur. L'énergie des photons X incidents étant caractéristique des atomes constitutifs de l'échantillon, on pourra utiliser la hauteur des impulsions pour connaître la nature de ces atomes. Plus la concentration d'un élément est élevée, plus l'appareil captera de photons X ayant la même énergie ou la même hauteur d'impulsion. Pour établir la concentration des éléments présents dans un échantillon, il faut compter le nombre d'impulsions de même hauteur. Le détecteur dispersif en énergie fonctionne exclusivement séquentiellement (traitement d'un photon intégralement avant de pouvoir traiter le photon suivant). Les détecteurs de dernière génération traitent plusieurs centaines de milliers de photons par seconde.

2.2.2. Les spectromètres à dispersion en longueur d'onde (WDS)

Dans ce type d'appareillage, pour identifier les différents rayons X émis par l'échantillon est intercalé sur leur trajet un cristal analyseur. Le dispositif utilise la propriété des solides cristallins de pouvoir diffracter des rayons X dans certaines conditions.

Dans un WDS, le rayonnement de fluorescence X émis par les atomes constituant l'échantillon est d'abord collimaté par un système de fentes appelées fentes de Soller ou collimateur en un faisceau de rayons parallèles (pour concentrer le rayonnement) vers un

cristal analyseur (figure 29). Le cristal analyseur est placé sur un goniomètre, ainsi l'angle qu'il présente aux rayonnements de fluorescence X peut varier. Un rayonnement caractéristique d'un atome ne sera détecté pour une position donnée du cristal que si sa longueur d'onde répond au critère de Bragg. Ainsi pour une position donnée du cristal, une seule raie caractéristique de longueur d'onde λ sera diffractée. L'analyse se fait donc de façon séquentielle.

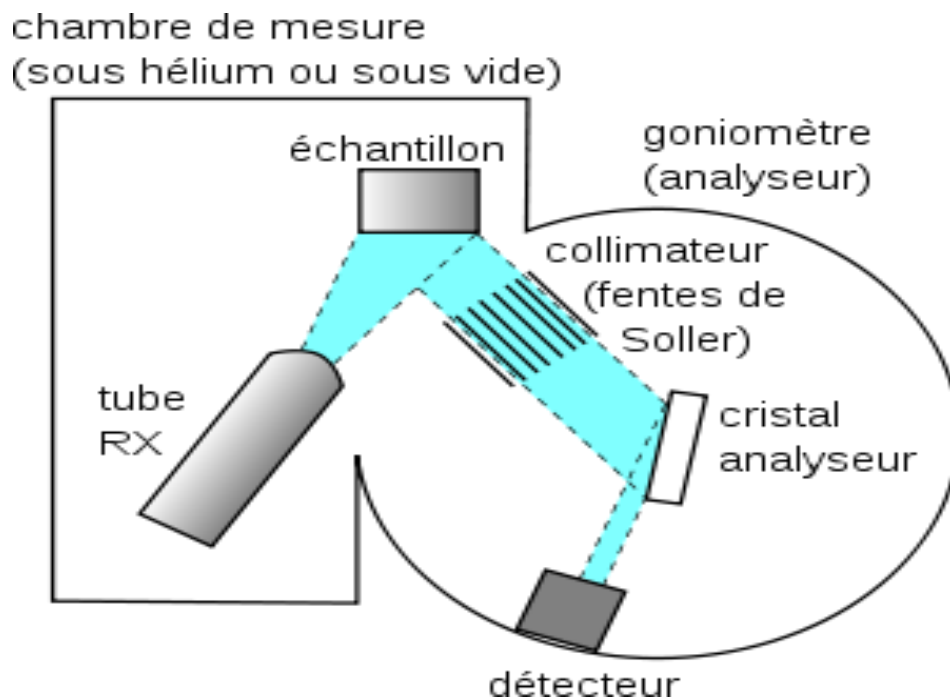


Figure 29: Schéma simplifié d'un spectromètre à dispersion en longueur d'onde (WDS)

• **Application de la spectrométrie de fluorescence des rayons X dans l'analyse des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques :**

Les deux formes, à savoir les techniques de dispersion de longueur d'onde (WD-XRFS) et de dispersion d'énergie (ED-XRFS) ont été appliquées avec succès pour la détermination de Zn, Fe et Ni dans les substances actives pharmaceutiques [61]. Margui et al. [62] ont utilisé le WD-XRFS pour analyser les niveaux des impuretés élémentaires (Fe, Zn, Cr et Ni) dans les substances médicamenteuses et les ont validés conformément aux spécifications de l'Agence européenne pour l'évaluation des médicaments (EMA) et de l'ICH. Les avantages de cette technique sont une sensibilité élevée, de faibles limites de détection, analyse directe de petite

taille d'échantillon, une quantification simple dans une large gamme dynamique et une analyse non destructive.

Une méthode simple d'analyse par fluorescence X à dispersion d'énergie a été proposée pour remplacer le test limite des métaux lourds de la Pharmacopée japonaise [51].

Ces derniers temps, la spectrométrie de fluorescence X à réflexion totale (TXRFS) s'est avérée utile pour la détermination des impuretés élémentaires dans les médicaments. Wagner et al. [63] ont étudié des échantillons de lécithine, d'insuline, procaine et tryptophane d'origines différentes. Les concentrations d'éléments fournissent des empreintes qui offrent la possibilité de faire la distinction entre différents lots de substances analysées provenant de différents processus de production ou de purification.

2.3. Les autres méthodes instrumentales d'analyse des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques

2.3.1. Les méthodes électrochimiques (ampérométrie, voltamétrie):

La voltampérométrie est une méthode d'analyse électrochimique basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation des analytes en solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques), dont certains simultanément, et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés. C'est une méthode analytique pour la détermination des concentrations à l'état de traces et en ultra-traces de métaux lourds et d'autres substances électrochimiquement actives.

Les méthodes électrochimiques, en particulier la voltampérométrie par décapage anodique (ASV), sont des alternatives intéressantes aux approches basées sur l'ICP. En plus de posséder des capacités de détection multiéléments, elles nécessitent une instrumentation de maintenance et d'exploitation relativement peu coûteuses. De plus, les techniques électrochimiques sont extrêmement rapides et sensibles, nécessitant de faible quantité d'échantillons, avec des limites de détection dans la gamme ppb ($\mu\text{g/l}$) [64]. L'ASV a été utilisée avec succès en analyse pharmaceutique pour la détermination des traces de métaux

dans les produits pharmaceutiques en vrac [65], entre autres pour la détermination sélective du sélénium dans les préparations pharmaceutiques pour administration parentérale.

En tant que variante de la voltampérométrie, la polarographie différentielle à impulsions (DPP) utilise une électrode à goutte de mercure comme électrode de travail. Dans la technique DPP, le courant est mesuré immédiatement avant chaque changement de potentiel et la différence de courant est tracée en fonction du potentiel. Des traces de sélénium dans les plantes médicinales chinoises ont été mesurés par une méthode DPP [57].

2.3.2. La spectrophotométrie UV/Visible

La spectrophotométrie UV/Visible est très utilisée en analyse chimique instrumentale car elle est relativement bon marché, rapide et simple d'utilisation. Elle utilise la lumière dans les domaines visible, ultraviolet et proche infrarouge. Selon la loi de Beer-Lambert, l'absorbance d'une solution analysée est directement proportionnelle à la concentration des espèces absorbantes en solution et à la longueur du trajet parcouru par le rayonnement dans la solution, ce qui correspond à l'une des dimensions du récipient. Ainsi, pour une longueur de trajet fixe, la spectrophotométrie UV/Visible peut être utilisée pour déterminer la concentration de plusieurs métaux, à condition que les éléments ciblés soient liés à un chromophore. Ainsi l'analyse des impuretés élémentaires par spectrophotométrie UV/Visible implique parfois l'utilisation de ligands qui se lient sélectivement aux métaux tels que le fer (II) et le cuivre (II) pour produire des complexes colorés avec une absorptivité molaire plus élevée pour permettre une détermination sensible de ces métaux dans différents échantillons pharmaceutiques [66]. Yadav et coll. [67] ont développé une méthode spectrophotométrique pour la détermination du Mo (VI) dans des échantillons pharmaceutiques en utilisant l'acétophénone 2', 4'-dihydroxy semicarbazone comme ligand chromophore. Mohit et al. [68] ont développé une nouvelle méthode spectrophotométrique par complexation du médicament avec de l'orthophénylène diamine et en surveillant l'absorbance du complexe de couleur verte à 706 nm pour la détermination précise du chlorhydrate de cisplatine. La méthode a été validée et appliquée avec succès pour les études de dosage et de dissolution des comprimés de chlorhydrate de cisplatine lors du contrôle qualité dans les industries pharmaceutiques.

2.3.3. L'électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire s'est révélée être une technique appropriée dans le domaine de l'analyse inorganique (anions et cations) dans différentes matrices. En particulier, dans la détermination des cations métalliques, elle peut être une alternative utile à diverses techniques telles que la spectrométrie d'absorption et d'émission atomique, la polarographie et la polarographie à impulsions [69].

Un aspect intéressant de l'analyse des cations est représenté par la spéciation des éléments, c'est-à-dire la possibilité de quantifier simultanément les impuretés élémentaires dans leurs différents états d'oxydation. Potentiellement, la spéciation pourrait être obtenue par l'électrophorèse capillaire simplement parce que, à différents états d'oxydation, les cations possèdent la même taille et une charge différente.

La méthode d'analyse basée sur l'électrophorèse capillaire a été utilisée avec succès par Swartz [70] pour la détection d'anions à l'état de traces (chlorure, sulfate, nitrate, citrate, fumarate, phosphate, carbonate et acétate) et pour la détermination quantitative des cations (calcium, sodium, fer (II) et zinc) dans une formulation vitaminique prénatale. Une méthode d'électrophorèse capillaire sélective pour la détermination simultanée du fer (III) et de son impureté potentielle du fer (II) a été développée en appliquant une double complexation précapillaire par Gotti et al [69]. En particulier, la 1,10-phénanthroline et l'acide 1,2-diaminocyclohexanetetraacétique ont été utilisés pour la complexation du fer (II) et du fer (III), respectivement.

2.3.4. L'analyse par activation neutronique instrumentale

L'analyse par activation neutronique instrumentale est une technique analytique relativement simple pour déterminer l'abondance des éléments dans une large gamme de matériaux. Cette technique repose sur la mesure du rayonnement caractéristique des radionucléides formés directement ou indirectement par irradiation neutronique du matériau d'intérêt. L'énergie des rayons gamma émis est utilisée pour identifier le nucléide et l'intensité du rayonnement peut être utilisée pour déterminer son abondance. Au cours des cinquante dernières années, cette technique analytique s'est avérée extrêmement utile dans la

détermination à l'état de traces des métaux et métalloïdes dans de nombreux types de matériaux environnementaux, géologiques, végétaux, alimentaires et pharmaceutiques. Les avantages sont les suivants:

- La méthode est non destructive, par conséquent le même échantillon peut être utilisé pour d'autres mesures;
- La taille de l'échantillon peut être très petite;
- Les limites de détection pour de nombreux éléments sont de l'ordre du ng / g;
- Aucune préparation d'échantillon n'est requise;
- Et plus de 40 éléments peuvent être mesurés simultanément.

En raison de ces avantages, l'analyse par activation neutronique instrumentale était une technique analytique très populaire par rapport à d'autres méthodes analytiques jusqu'à ce que l'ICP-MS soit utilisé. Comme elle ne nécessite pas la dissolution de l'échantillon, elle présente un grand avantage sur les techniques telles que la SAA, l'ICP-AES et l'ICP-MS. Kamath et al. [71] ont utilisé les techniques ICP-AES et l'analyse par activation neutronique instrumentale pour la détermination du mercure dans certains médicaments indiens traditionnels. Hernández [72] a utilisé l'analyse par activation neutronique instrumentale pour la détermination précise des niveaux de concentration de plusieurs composants (Na, Mg, Al, Cl, K, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr, Zr, Mo, Ag, Cd, Sb, I, Cs, Ba, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Tb, Dy, Yb, Lu, Hf, Ta, Hg, Th et U) dans trois produits radiopharmaceutiques.

Malgré les avantages ci-dessus, l'analyse par activation neutronique instrumentale n'est certainement pas une technique analytique populaire car elle prend du temps, n'est pas indépendante, nécessite un réacteur à proximité et implique des temps de refroidissement plus longs pour certains éléments

Tableau 9 : Tableau comparatif entre l'ICP-MS, l'ICP-AES, la F-AAS et la GF-AAS

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

3. La validation analytique des méthodes d'analyse des impuretés élémentaires

Si les procédures 1 ou 2 spécifiées au niveau du chapitre « 233 » de l'USP ne répondent pas aux besoins d'une application spécifique concernant l'analyse des impuretés élémentaires, une procédure alternative peut être développée. Cependant, les procédures alternatives développées doivent être validées et démontrées acceptables, conformément aux exigences de validation des méthodes d'analyse. Le niveau de validation nécessaire pour garantir qu'une procédure analytique pour la détermination des impuretés élémentaires des produits pharmaceutiques est acceptable, dépend de la question de savoir si un essai limite ou une détermination quantitative est requis. L'ICH, au niveau de sa ligne directrice Q2(R1) (validation des méthodes d'analyse : texte et méthodologie), stipule que : « L'analyse des impuretés peut être un dosage quantitatif ou la vérification d'une teneur limite. Dans les deux cas, il s'agit d'évaluer avec exactitude la pureté de l'échantillon. Les caractéristiques à évaluer

diffèrent selon qu'on valide une méthode de dosage ou une méthode de vérification d'une teneur limite ».

Un test limite ou une méthode de vérification d'une teneur limite compare généralement le signal obtenu à partir d'une solution standard (contenant l'impureté élémentaire cible et à la concentration maximale acceptable) à une solution échantillon (substance médicamenteuse ou excipient). Lorsque le signal obtenu à partir de la solution d'échantillon est inférieur à celui de la solution standard, l'échantillon est réputé réussir le test. Les résultats de ce type de test sont généralement indiqués dans un certificat d'analyse avec «réussite» ou «satisfait à l'exigence» [73].

Un test quantitatif ou une méthode de dosage d'impuretés compare la solution étalon et la solution échantillon de telle manière qu'une estimation de la valeur réelle du mesurande puisse être calculée. Une évaluation des impuretés élémentaires utilise souvent une courbe d'étalonnage préparée à partir d'une série de solutions étalons d'un étalon de référence de haute qualité pour convertir le signal obtenu de l'instrument en une valeur de concentration de l'impureté élémentaire cible. Ces courbes d'étalonnage sont généralement mesurées chaque jour et, dans de nombreux cas, sont répétées pendant l'analyse pour s'assurer que toute dérive instrumentale a été prise en compte. Les résultats de ce type de test peuvent être rapportés avec une valeur ou une notation «<x ppm» dans un certificat [73].

Les caractéristiques de performance analytique qui doivent être validées pour une méthode de dosage ou une méthode de vérification d'une teneur limite des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques sont répertoriées dans le tableau 10.

Tableau 10 : Les caractéristiques à valider pour une méthode dosage ou pour un essai limite des impuretés élémentaires selon l'ICH Q2(R1)

Caractéristiques à valider	Méthode de dosage	Essai limite
Exactitude	Oui	Non
Précision	Oui	Non
Spécificité	Oui	Oui
Limite de détection	Non	Oui
Limite de dosage	Oui	Non
Linéarité	Oui	Non
Ecart d'utilisation	Oui	Non

3.1. Les caractéristiques de performance analytique à évaluer pour la validation analytique d'une méthode d'essai limite des impuretés élémentaires

3.1.1. La spécificité

La spécificité est la propriété qui fait qu'une méthode d'analyse rend compte sans ambiguïté de la substance analysée en présence d'autres composantes normalement présentes. Ces dernières peuvent inclure des impuretés, des produits de dégradation, la matrice, etc [74]. Dans le cas des impuretés élémentaires, la spécificité est directement liée à la capacité de déterminer la présence et la teneur d'impuretés traces individuelles en présence d'autres impuretés élémentaires traces et de composants matriciels complexes. La majorité des méthodes analytiques utilisées élimineront ou réduiront considérablement l'interférence des impuretés organiques. Ceci est accompli à travers le processus de digestion, le cas échéant, et les processus d'excitation / émission des approches instrumentales. Cependant, même les techniques modernes peuvent être sensibles aux interférences d'autres métaux dans la matrice.

Dans le cas d'un test limite, un faux positif est le résultat probable d'un manque de spécificité. Ceci est mieux indiqué en utilisant un mélange de toutes les impuretés

élémentaires probables ciblées pour un analyte donné. Dans cette solution, chacune des impuretés doit être dopée au niveau maximum autorisé pour chaque élément. Si les signaux associés à chaque élément de l'échantillon enrichi s'avèrent similaires au signal de la solution standard, alors la procédure peut être considérée comme acceptable. Une procédure acceptable devrait être capable de quantifier une solution enrichie à moins de 20% de la limite cible. Par exemple, une solution enrichie aux niveaux cibles maximaux de trois métaux peut contenir 5 ppm de plomb, 15 ppm d'arsenic et 5 ppm de cadmium et l'analyte (par exemple l'aspirine). Une fois mesurés, les signaux de plomb, d'arsenic et de cadmium doivent être inférieurs aux signaux provenant d'étalons séparés à 6 ppm, 18 ppm et 6 ppm, respectivement [73].

3.1.2. La limite de détection (LOD)

La LOD est la concentration à laquelle un mesurande peut être détecté mais pas nécessairement quantifié. L'approche traditionnelle décrite dans le chapitre général USP « 1225 » indique que la LOD n'a pas réellement besoin d'être mesurée à l'intérieur, la capacité de montrer qu'un signal est obtenu à la limite cible de la procédure est suffisante. Alternativement, la LOD peut être estimée par l'approche du rapport signal/bruit. En général, un rapport signal/bruit de 3 ou 2 pour 1 est considéré comme acceptable pour l'estimation de la limite de détection [74]. Cependant, cela serait démontré par une extrapolation de la linéarité (qui n'est pas une exigence pour une procédure limite). L'approche standardisée évite le concept de LOD au profit d'un nouveau terme, la détectabilité.

La mesure de détectabilité est un nouveau terme et une nouvelle approche qui ont été introduits dans le chapitre général USP « 233 ». La détectabilité est mesurée en évaluant quatre solutions:

- (1) Solution standard préparée à l'aide de substances de référence pour le ou les éléments cibles à la concentration maximale admissible,
- (2) Solution échantillon enrichie 1 avec des substances de référence appropriées pour les éléments cibles à la concentration maximale admissible,
- (3) Solution échantillon enrichie 2 avec des substances de référence appropriées à 80% de

la concentration maximale admissible pour les éléments cibles,

(4) Solution échantillon non enrichie.

Les critères d'acceptation sont :

- Le signal de chaque solution échantillon enrichie est plus fort que le signal de la solution d'échantillon non enrichie,
- La valeur moyenne des trois mesures répétées de la solution d'échantillon enrichie 1 est dans $\pm 15\%$ de la valeur moyenne obtenue avec les mesures répétées de la solution étalon,
- La valeur moyenne des mesures répétées de la solution échantillon enrichie 2 doit fournir une intensité ou une valeur de signal inférieure à celle de la solution standard

3.2. Les caractéristiques de performance analytique à évaluer pour la validation analytique d'une méthode de dosage des impuretés élémentaires :

3.2.1. L'exactitude :

Selon la définition de l'ICH, L'exactitude correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention. Pour évaluer l'exactitude d'une méthode analytique utilisée dans la détermination des impuretés élémentaires, on doit utiliser des échantillons (de la substance médicamenteuse ou du produit fini) enrichis de quantités connues d'impuretés. Cependant, lorsqu'il est impossible d'obtenir des échantillons des impuretés élémentaires ciblés, il est acceptable de comparer les résultats obtenus avec ceux obtenus par une méthode indépendante [74].

L'approche standardisée pour la détermination de l'exactitude spécifie qu'une plage d'échantillons enrichis doit être centrée sur la concentration maximale admissible de chaque impureté élémentaire et inclure une plage de 50% à 150% de la valeur cible. Les échantillons doivent être enrichis avant toute manipulation d'échantillon (par exemple digestion). Le pourcentage de récupération de la substance dont une quantité connue a été ajoutée à

l'échantillon, ou la différence entre la valeur moyenne et la valeur considérée comme véritable est déterminé et doit être comprise entre 70% et 150% à chaque valeur de concentration.

La procédure proposée dans le chapitre général USP « 233 » afin d'évaluer l'exactitude d'une méthode analytique à valider nécessite de préparer :

- Solutions étalons: solutions contenant les impuretés élémentaires ciblées à des concentrations allant de 50% à 150% de la concentration maximale admissible, en utilisant des échantillons de référence appropriés.

- Solutions d'essai: obtenues avec des échantillons du produit médicamenteux à tester enrichis d'impuretés élémentaires de référence appropriés avant toute étape de préparation des échantillons (digestion ou solubilisation) à des concentrations allant de 50% à 150% de concentration maximale admissible pour chaque élément cible.

Les critères d'acceptation sont l'obtention de pourcentage de récupération de la substance dont une quantité connue a été ajoutée à l'échantillon compris entre 70% –150% pour la moyenne de trois préparations répétées à chaque concentration.

3.2.2. La précision :

Selon la définition de l'ICH, la précision d'une méthode correspond au degré d'accord (degré de dispersion) entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites. Elle peut s'évaluer à trois niveaux : répétabilité, précision intermédiaire et reproductibilité. La précision est généralement exprimée par l'écart type relatif (RSD).

La procédure proposée dans le chapitre général USP « 233 » afin d'évaluer la précision d'une méthode analytique à valider évalue la répétabilité et la précision intermédiaire.

La répétabilité est déterminée par le biais de l'analyse de six échantillons indépendants du produit médicamenteux à tester (provenant du même lot) enrichis d'impuretés élémentaires de référence appropriée avant toute étape de préparation des échantillons (digestion ou solubilisation) à une concentration indiquée et identique pour tous les six échantillons. Concernant les critères d'acceptation, un $RSD \leq 20\%$ est requis pour chaque impureté élémentaire testée.

La détermination de précision intermédiaire consisterait à effectuer à nouveau l'analyse de répétabilité soit un jour différent, avec une instrumentation différente, avec un analyste différent, ou une combinaison de ceux-ci. Après, on va combiner les résultats de cette analyse avec l'analyse de répétabilité pour que le nombre total d'analyses soit égal à 12. Concernant les critères d'acceptation, un $RSD \leq 25\%$ est requis pour chaque impureté élémentaire testée.

3.2.3. La spécificité

Les exigences et la méthodologie des procédures d'une méthode de dosage et d'une méthode d'essai limite sont très similaires. Contrairement aux tests limites (tels que la précipitation de sulfures), un manque de spécificité pour les tests quantitatifs est rarement une fonction additive, mais est généralement causé par des interactions spécifiques, des chevauchements ou des problèmes d'échantillonnage. Par exemple, lors de la mesure de l'arsenic par ICP-MS, il faut veiller à ce que le chlorure d'argon ne soit pas confondu avec l'arsenic car chacun a le même m/z. Cependant, le moyen le plus efficace de constater un manque de spécificité est la comparaison des solutions enrichies aux courbes d'étalonnage pour chaque élément cible. Si le contenu mesuré de la solution enrichie diffère de la valeur connue du pic de plus de 20%, la procédure manque de spécificité.

3.2.4. La limite de dosage ou de quantification (LOQ) :

Selon la définition de l'ICH, la limite de dosage d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité de substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude.

La LOQ peut être déterminée par le biais de deux approches. Ceux-ci comprennent le rapport signal/bruit (S/N) et l'analyse de la courbe d'étalonnage.

L'approche par mesure de S/N ne convient qu'aux méthodes d'analyse avec un bruit de fond.

Pour déterminer le rapport signal/bruit, on compare le signal obtenu avec des échantillons contenant de faibles concentrations connues de la substance à analyser au signal obtenu avec des blancs, et on détermine la concentration la plus faible à laquelle la substance peut être quantifiée de façon fiable. En général, le rapport signal/bruit est de 10 pour 1.

Dans l'approche utilisant la courbe d'étalonnage, la LOQ peut être représentée par la formule suivante : $LOQ = 10 s / P$ où

- S = écart-type de la réponse
- P = pente de la courbe d'étalonnage



Partie pratique

Introduction

Le contrôle et l'assurance de la qualité (CQ / AQ) sont des opérations essentielles dans la fabrication des substances médicamenteuses et des médicaments et constituent un sujet de préoccupation majeure. La détermination des impuretés élémentaires dans les substances actives, les excipients, les articles de conditionnement et les médicaments à différents stades de leur fabrication est justifiée et nécessaire car fait partie intégrante des paramètres pouvant définir la qualité d'un médicament. En tant qu'impuretés inorganiques, les métaux sont l'un des trois types d'impuretés (impuretés organiques, inorganiques et solvants résiduels) qui doivent être contrôlés dans les médicaments et leurs matières premières et, par extension, dans certains aliments et compléments alimentaires.

Les méthodes analytiques utilisées pour évaluer la qualité des médicaments et de leurs matières premières sont décrites dans des monographies logées dans des documents de références appelés pharmacopées. Concernant la détermination des impuretés élémentaire, les pharmacopées européennes et américaine recommandaient un «essai limite des métaux lourds» basé sur des méthodes analytiques chimiques et colorimétriques, tels que ceux décrits dans le chapitre 2.4.8 de la pharmacopée européenne sur les métaux lourds et le chapitre général « 231 » de la convention de la pharmacopée des États-Unis (USP) [75]. Ces méthodes sont toutes basées sur la précipitation des métaux avec l'ion sulfure et la comparaison avec un étalon de sulfure de plomb (PbS). L'application de ces méthodes présente plusieurs inconvénients tels que la mauvaise sélectivité, car elles ne discriminent pas les différentes espèces métalliques, et la très faible sensibilité. En plus, ce sont des méthodes qui reposent sur un examen visuel subjectif et qui impliquent généralement une étape de minéralisation par incinération, qui est connue pour provoquer des pertes d'éléments volatils.

La difficulté à obtenir des résultats fiables et reproductibles à partir des méthodes classiques colorimétriques a conduit au développement de nouvelles procédures qui, contrairement à la méthode au sulfure, sont suffisamment sélectives et sensibles pour identifier et quantifier chaque impureté élémentaire individuelle dans les échantillons. Ainsi, en février 2017, de nouvelles procédures d'analyse des impuretés élémentaires (inorganiques)

dans les produits et les ingrédients pharmaceutiques ont été établies. Les tests chimiques et colorimétriques, tels que ceux décrits dans le chapitre 2.4.8 de la pharmacopée européenne sur les métaux lourds et le chapitre général <231> de la convention de la pharmacopée des États-Unis (USP), ont été remplacés par des méthodes instrumentales permettant de mesurer de manière spécifique et quantitative chaque impureté élémentaire dans les médicaments et leurs ingrédients [42]. Comme techniques instrumentales modernes, le chapitre USP<233> recommande la spectroscopie d'émission atomique avec plasma à couplage inductif (ICP-AES) ou ICP-spectrométrie de masse (ICP-MS) pour remplacer le test colorimétrique utilisé dans le chapitre USP<231>. D'autres méthodes analytiques alternatives telles que la spectroscopie d'absorption atomique [76, 77], la spectrométrie de fluorescence des rayons X [78], les méthodes électrochimiques [64] peuvent être utilisées à condition qu'il puisse être démontré qu'elles répondent aux exigences de validation des procédures alternatives et de performance définies dans le chapitre USP « 233 ». Ce dernier recommande également l'utilisation de récipients clos pour la digestion des échantillons solides afin d'assurer le recouvrement quantitatif de tous les analytes réglementés, y compris les éléments volatils tels que le mercure.

L'objectif de ce travail est de réaliser une revue de la littérature des articles scientifiques, proposant l'utilisation de nouvelles méthodes analytiques comme alternatives à la méthode classique, pour la détermination quantitative et sélective des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques, publiés entre 2000 et 2019. Cependant, les articles concernant la détermination des impuretés élémentaires dans les plantes médicinales et dans les produits biologiques ne sont couverts par notre étude. Par la suite, les méthodes analytiques seront classées selon leur fréquence d'utilisation dans les articles recensés, afin de déterminer la méthode analytique la plus employée pour l'analyse des impuretés élémentaires. Les limites de détection (LOD) obtenues avec les différentes méthodes d'analyses sont comparées afin de déterminer la méthode la plus sensible.

I. Matériels et méthode

La présente étude passe en revue les articles scientifiques consacrés à l'évaluation des niveaux d'impuretés élémentaires dans les médicaments et leurs matières premières conformément aux nouvelles procédures analytiques décrites dans le chapitre « 233 » de l'USP. Ainsi, tous les articles ayant utilisé une méthode spectroscopique à plasma à couplage inductif (ICP) ou autre méthode d'analyse atomique (spectroscopique ou non), à condition qu'il puisse être démontré qu'elle répond aux exigences de validation des procédures alternatives, ont été recensés.

Cette revue systématique de la littérature a été réalisée sur des articles publiés entre janvier 2000 et décembre 2019. Pour cela, on a utilisé comme matériels plusieurs bases de données en ligne incluant ScienceDirect, PubMed, Scopus, SpringerLink et Google Scholar. Les articles ont été recherchés dans les bases de données susmentionnées avec les mots clés comme « métal », « elemental », « impurities », « drug » ou avec les expressions comme « determination of metal impurities in drugs », « determination of elemental impurities in drugs », « research and determination of elemental impurities in drugs ». La recherche des articles a été faite en utilisant des expressions en anglais afin de recenser le maximum d'articles possible. Pour une meilleure uniformité des données de l'étude et pour ne pas s'éloigner du cadre réglementaire relatif à la détermination des impuretés élémentaires dans les médicaments, ont été exclus de la recherche bibliographique:

- Les articles évaluant les impuretés élémentaires dans les plantes médicinales ou préparations à base de plantes médicinales,
- Les articles travaillant sur la détermination des impuretés élémentaires dans les dispositifs médicaux,
- Les articles évaluant les impuretés élémentaires dans les produits cosmétiques.

Une fois la recherche bibliographique clôturée, les citations des articles recensés ont été stockés dans la librairie virtuelle « EndNote X7 » pour une gestion optimale des références. Par la suite, une analyse critique minutieuse de chaque article a été réalisée. Pour une meilleure organisation des données issues de l'analyse des articles recensés, un tableau a été

réalisé dans une feuille de calcul « Microsoft Excel ». A l'aide de ce tableau, pour chaque article, on a déterminé :

- La ou les méthode(s) d'analyse(s) alternative(s) utilisée(s),
- La nature et le mode de préparation des échantillons à analyser,
- Les impuretés élémentaires recherchées,
- Les médicaments, substances actives ou excipients utilisés comme échantillon d'étude,
- La référence de l'article concerné.

Avec l'exploitation des données contenues dans le tableau on a :

- Déterminé le nombre d'articles total qui se sont intéressés à la recherche et la détermination des impuretés élémentaires dans les médicaments, substances actives ou excipients entre janvier 2000 et décembre 2019,

- Déterminé pour chaque année, le nombre d'articles qui ont utilisé les méthodes spectroscopiques à plasma à couplage inductif (ICP) (recommandées par l'USP) et le nombre d'articles ayant utilisé une autre méthode analytique jugée alternative

- Réalisé un diagramme de secteurs en 3D mettant en exergue la fréquence d'utilisation des différentes méthodes d'analyse alternatives dans les articles recensés ; ce qui nous a permis d'avoir une idée sur la méthode d'analyse la plus utilisée et pouvoir classer les méthodes d'analyse selon la récurrence de leur utilisation dans la détermination des impuretés élémentaire,

- Établi un histogramme 3D en forme cylindrique mettant en évidence le nombre d'article recensé en fonction du couple (impureté élémentaire définie / méthode analytique définie) ; ainsi on a une idée, par exemple pour l'arsenic, sur le nombre d'articles à avoir évalué sa présence dans les médicaments, substances actives ou excipients en utilisant l'ICP-MS, la SEA, la SAA, les méthodes électrochimiques, la SFRX ou encore en utilisant l'électrophorèse.

Indépendamment des données contenues dans le tableau, pour chaque article et selon la

méthode d'analyse choisie, on a recueilli les données concernant la limite de détection (LOD) de ladite méthode d'analyse. Comme cette limite de détection fait partie des exigences de performance et des critères de validation des méthodes analytiques dites alternatives à la méthode classique de l'essai des métaux lourds, on a dressé un tableau comparatif des limites de détection (LOD) obtenues avec les différentes méthodes analytiques utilisés dans les différents articles intégrés dans notre revue. Avec ce tableau comparatif, on aura une idée sur la méthode analytique la plus sensible.

II. Résultats

Notre revue de la littérature consacrée à la recherche bibliographique des articles scientifiques qui se sont intéressés à la détermination des impuretés élémentaires dans les médicaments, les substances actives ou les excipients, publiés entre janvier 2000 et décembre 2019, nous a permis de recenser 74 articles. Ces derniers sont présentés dans le tableau A. Au niveau De ce tableau, on a répertorié, pour chaque article, la méthode analytique employée pour l'étude, la nature et le mode de préparation des échantillons à analyser, les impuretés élémentaires investiguées et la ou les spécialité(s), la ou les substance(s) active(s) ou excipient utilisé comme matière d'étude.

Le graphique suivant établi pour chaque année, de 2000 à 2019, le nombre d'articles qui ont utilisé les méthodes spectroscopiques à plasma à couplage inductif (ICP) (recommandées par l'USP) et le nombre d'articles ayant utilisé une autre méthode analytique jugée alternative.

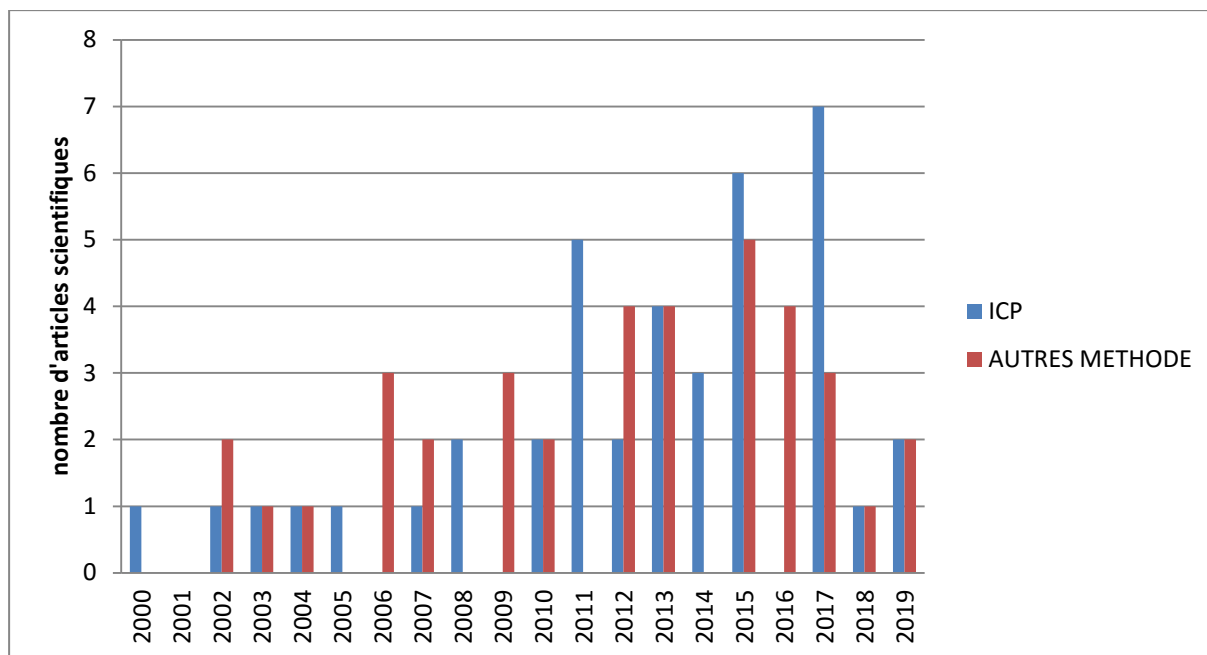


Figure 30:Articles publiés de 2000 à 2019 concernant l'utilisation de méthodes basées sur le plasma à couplage inductif (ICP) et les autres méthodes analytiques alternatives pour la détermination des impuretés élémentaires d'éléments dans les médicaments

Parmi les 74 articles intégrés dans notre revue:

- 66 articles ont juste utilisé une seule méthode d'analyse instrumentale dans leur étude,
- 7 articles ont utilisé deux méthodes d'analyse dans leur étude et un article a utilisé 3 méthodes d'analyse. Parmi les 7 articles à avoir travaillé avec deux méthodes d'analyse, 3 articles ont réalisé une étude comparative des résultats obtenus avec l'ICP-MS et avec la SAA. L'ICP-MS en comparaison avec la SEA, l'ICP-MS en comparaison avec la SFRX, l'ICP-MS en comparaison avec la polarographie et la SAA en comparaison avec la SEA constituent les combinaisons qu'on retrouve dans les 4 articles restant à avoir travaillé avec deux méthodes d'analyse,
- 1 article a utilisé 3 méthodes d'analyse. Les méthodes d'analyse utilisées indépendamment étaient l'ICP-MS, la SAA et la SEA, chacune utilisée pour la détermination d'impuretés élémentaires différentes.

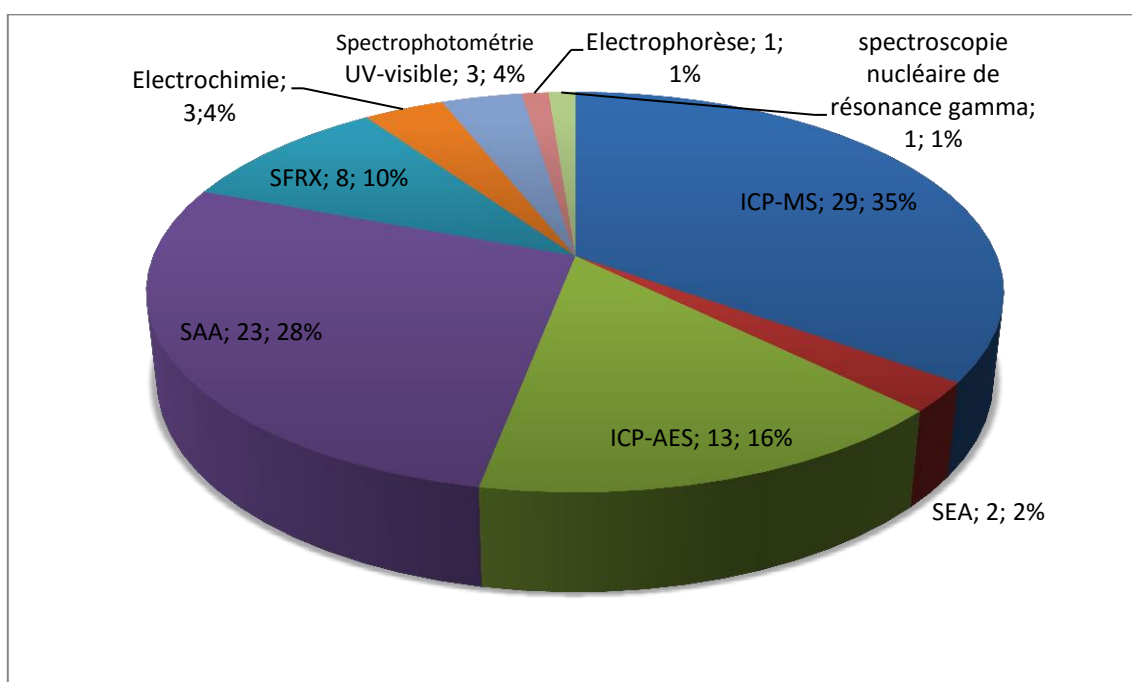


Figure 31: fréquence d'utilisation des différentes méthodes d'analyse alternatives dans les articles recensés

Au niveau de la figure 31, on a pour chaque méthode d'analyse alternative le nombre d'articles parmi les 74 recensés à l'avoir utilisé. Ainsi, l'ICP-MS a été retrouvé dans 29 articles, la SAA a été utilisé comme méthode d'analyse dans 23 articles, la SEA a servi d'instrument analytique dans 15 articles, les méthodes électrochimiques et l'UV-Visible ont été employées chacune dans 3 articles, la spectroscopie nucléaire de résonance gamma de même que l'électrophorèse ont été utilisées dans un article.

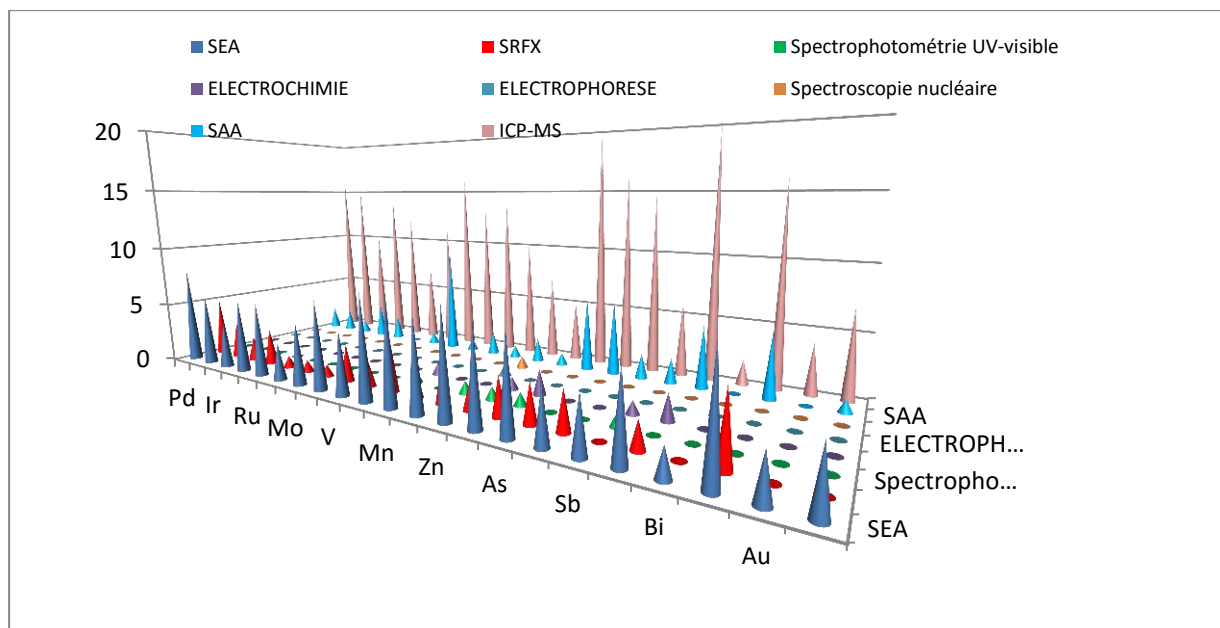


Figure 32: Utilisation des différentes techniques analytiques dans la détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques entre 2000 et 2019

La figure ci-dessus met en évidence les différentes méthodes analytiques utilisées au niveau des articles recensés pour la recherche des différentes impuretés élémentaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques. Pour chaque couple impureté/méthode analytique on a une idée sur le nombre d'articles ayant recherché l'impureté concernée avec la méthode analytique correspondante. A titre d'exemple :

- La détermination du Pd a été effectuée dans les différentes études concernées soit par ICP-MS, soit par SAA, soit par SEA, ou bien par SFRX. Quantitativement, le Pd a été déterminé dans 16 articles avec la méthode analytique ICP-MS, dans 2 articles avec la méthode SAA, dans 5 articles avec la méthode SFRX et dans 8 articles avec la méthode analytique SEA.

- La détermination du Cd a été effectuée dans les différentes études concernées soit par ICP-MS, soit par SAA, soit par SEA, soit par analyse électrochimique ou bien par SFRX. Quantitativement, le Cd a été déterminé dans 20 articles avec la méthode analytique ICP-MS, dans 5 articles avec la méthode SAA, dans 2 articles avec la méthode SFRX, dans 6 articles avec la méthode analytique SEA et dans 2 articles par analyse électrochimique.

• La détermination du Fe a été effectuée dans les différentes études concernées soit par ICP-MS, soit par SAA, soit par SEA, soit par spectrophotométrie UV-Visible, soit par électrophorèse, soit par spectroscopie nucléaire de résonance gamma ou bien par SFRX. Quantitativement, le Fe a été déterminé dans 7 articles avec la méthode analytique ICP-MS, dans 2 articles avec la méthode SAA, dans 3 articles avec la méthode SFRX, dans 7 articles avec la méthode analytique SEA et dans un article par analyse électrophorèse, dans un autre article avec l'UV-Visible et dans un article avec la spectroscopie de résonance gamma.

Tableau 11: Articles publiés entre janvier 2000 et décembre 2019 concernant la détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques par des méthodes instrumentales

Référence	Méthode analytique	Matrice (solvant)	Impuretés recherchés	produits analysés
[79]	la spectrométrie de fluorescence X à réflectance totale (TXRFS)	Dissolution directe dans solvants organique	Al, K, Ca, Fe, Ni, Sr, Pd	Substances actives pharmaceutiques
[80]	HPLC-ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	As (III), As (V), Cr (III), Cr (VI)	Suppléments de fer
[81]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	As, Cd, Hg, Pb	Levothyroxine sodium, gestodene, ethinylestradiol, sodium dipyrone, orfenadrine citrate, monoidratated dipirone, diclofenac sodium, paracetamol, carisoprodol, caffeine, metformin hydrochloride, losartan potassium, calcium carbonate et maltodextrin
[81]	ICP-AES	Digestion humide assistée par micro-ondes	As, Cd, Hg, Pb	
[82]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Mn, Co, Ni, Mo, Ru, Rh, Pd, Cd, Sn, Sb, Ir, Pt, Pb	Captopril, Enalapril, Benazepril, Lisinopril, Ramipril, Quinapril, Valsartan, losartan, Olmesartan,

				Candesartan, Hydrochlorothiazide, Carbamazepine, Diclofenac, Paracetamol, Tilidine, Naloxone
[82]	ICP-AES	Digestion humide assistée par micro-ondes	Cu, Fe, Zn	
[82]	CVAAS (SAA à vapeur froide)	Digestion humide assistée par micro-ondes	Hg	
[82]	HGAAS (SAA à génération d'hydrure)	Digestion humide assistée par micro-ondes	As	
[82]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Digestion humide assistée par micro-ondes	Cr	
[83]	ICP-AES	Digestion humide assistée par micro-ondes	Mn, Co, Ni, Mo, Ru, Rh, Pd, Cd, Sn, Sb, Ir, Pt, Pb, V, Os, Au, Se, Hg, As, Ag	Aspirine et lisinopril.
[64]	Voltamétrie	Dissolution directe dans solvants aqueux	Cd, Pb	Kétoprofène
[84]	LA-ICP-MS (laser ablation)	Analyse directe des échantillons	Mn, Co, Ni, Cu, Pb, Cd	Arbidol
[85]	la spectrométrie de fluorescence X à réflectance totale (TXRFS)	Digestion humide classique	Cr, Fe, Cu, Rh, Pd, Pt	triprolidine, diphenhydramine, chlorpheniramine maleate, pseudoephedrine, ephedrine sulfate et scopolamine
[85]	ICP-MS	Digestion humide classique	Cr, Fe, Cu, Rh, Pd, Pt	triprolidine, diphenhydramine, chlorpheniramine maleate, pseudoephedrine, ephedrine sulfate et scopolamine
[86]	ICP-MS	Digestion humide classique	Cd, Pb, As, Hg, Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Cr, Mo, Ni, V, Cu	TP-6076 substance active
[87]	la spectrométrie de fluorescence X à dispersion (WDXRFS)	Analyse directe des échantillons	As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, V	Substances actives pharmaceutiques et compléments alimentaires

[16]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni, Tl, Au, Pd, Ir, Os, Rh, Ru, Se, Ag, Pt, Li, Sb, Ba, Mo, Cu, Sn, Cr	Substances actives et excipients pharmaceutiques
[76]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Digestion humide classique	Cd, Pb, Pd, V, Cr, Mo, Ni, Cu, Ir, Pt, Rh, Ru	Losartan, Simvastatin, Omeprazole
[88]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Cd, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Cu, Cr, As, Hg	Lévodope, primaquine diphosphate, chlorhydrate de propranolol, sulfaméthoxazole
[89]	ICP-AES	Digestion humide assistée par micro-ondes	Ag, As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ir, Li, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Tl, V	Choline citrate, bétaine, dipyrone monohydrate, dexchlorpheniramine maleate
[90]	ICP-AES	Digestion humide assistée par micro-ondes	As, Cd, Cu, Cr, Fe, Hg, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, V, Zn	Substances actives pharmaceutiques
[91]	LA-ICP-MS	Poudre comprimé en pellet	Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni, Tl, Au, Pd, Ir, Os, Rh, Ru, Se, Ag, Pt	Substances actives, excipients et produit pharmaceutiques
[20]	ICP-MS	Digestion humide classique	Na, Al, Si, W, Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni, Au, Pd, Ir, Os, Rh, Ru, Se, Ag, Pt	Seringues pré-remplies
[92]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Digestion humide classique	Cd, Pb	Haloperidol, Methyldopa, acetaminophen, Losartane, Metformin, Phenytoin, Ibuprofen, Hydralazine,

				Levonorgestrel, Levonorgestrel/Ethinyl estradiol
[92]	ICP-MS	Digestion humide classique	Cd, Pb	Haloperidol, Methyl dopa, acetaminophen, Losartane, Metformin, Phenytoin, Ibuprofen, Hydralazine, Levonorgestrel, Levonorgestrel/Ethinyl estradiol
[93]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Analyse directe des échantillons/ Digestion humide assistée par micro-ondes	Cr	Substances actives et excipients pharmaceutiques
[33]	ICP-SFMS/ ICP-QMS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Cd, Pb, As, Hg, Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Cr, Mo, Ni, V, Cu, Mn, Fe, Zn	Acide acétylsalicylique, amino acid l-serine
[77]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Digestion humide classique	Cu, Mg, Ba, Ni, Cr, Pb	Substance active pharmaceutique
[94]	ETAAS (SAA à atomisation électrothermique)	Digestion humide assistée par micro-ondes	Pb, Cd	Gel d'anesthésiques locaux
[95]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Digestion humide classique	Ag, As, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn	Compléments alimentaires
[96]	Voltamétrie	Digestion humide classique	Zn, Cd, Pb, Cu	Substance active pharmaceutique
[97]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Al, Fe, Ni, Cu, Co, Cr, Ag, Cd, W, Pb, V, Rb, Mo	Substance active pharmaceutique
[98]	HR- CS AAS (SAA à source continue haute résolution)	Digestion humide classique	Ni, Co	vitamine B12
[30]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	As, Cd, Hg, Pb	Carbamazépine, Amitriptyline, Chlorhydrate d'imipramine
[99]	ETAAS (SAA à atomisation électrothermique)	Solide (poudre)	Cr	Sulfate de baryum pharmaceutique

[49]	ICP-MS	Digestion humide classique	Zn, Cd, Pb, Cu, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Hg	Dicyclomine, ethambutol, pyrazinamide, furazolidone
[100]	ICP-MS	Dissolution directe dans solvants aqueux	Ag, As, Se, Sn, Sb, Pd, Cd, In, Pt, Pb, Bi, Hg, Ru, Mo	Substances actives pharmaceutiques
[78]	la spectrométrie de fluorescence X (XRFS)	Complexe d'ions métalliques avec 8-hydroxyquinoline	Mn, As, Fe, Co, Cu, Zn, Pb, Ni, Hg	Sodium chloride, D-glucose, Dextrane
[101]	ICP-AES	Digestion humide classique	Sn, Sb, Bi, Fe, Cd, Pb, As, Hg, Zn, V, Ni, Au, Pd, Ir, Os, Rh, Ru, Mn, Ag, Pt, Cr	Levetiracetam
[48]	ICP-MS	Digestion humide classique	Sn, Sb, Bi, Fe, Cd, Pb, As, Hg, Zn, V, Ni, Au, Pd, Ir, Os, Rh, Ru, Mn, Ag, Pt, Cr, Gd	Substances actives pharmaceutiques
[102]	AES	Digestion humide classique	Ca, Zn	Solution buvable de gluconate
[103]	ICP-AES	Suspension de poudre dans une solution	Ag, Al, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn, As, Be, Pd, Se	Antibiotiques
[104]	ICP-MS	Dissolution directe dans solvants organique	Pd	Substances actives pharmaceutiques
[105]	ICP-MS	Digestion humide classique	As, Cd, Cu, Pb, Mo, Hg, Cr, Mn, Ni, V	Substances actives pharmaceutiques
[106]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	As, Cu, Cr, Ni, Pb, V	Acyclovir
[107]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Dissolution directe dans solvants organique	Ru	Diisopropanolamine, trimethylglycine
[62]	la spectrométrie de fluorescence X à dispersion (WDXRFS)	Analyse directe des échantillons	Fe, Zn, Cr, Ni	Substances actives pharmaceutiques

[108]	la spectrométrie de fluorescence X à réflectance totale (TXRFS)	Dissolution directe dans solvants organique / Digestion humide assistée par micro-ondes	Rh, Pd, Ir, Pt	Voriconazole, Pyridinyl bisphosphonate
[109]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes suivie d'une ultrasonication	Rh, Pd, Pt	Tritace, Vivace, Laprilen and Enalapril
[110]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, P, Se, Zn	Produits pharmaceutiques multivitaminés
[110]	ETAAS (SAA à atomisation électrothermique)	Digestion humide assistée par micro-ondes	Ca, Cr, Fe	Produits pharmaceutiques multivitaminés
[111]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Os	Substances actives pharmaceutiques
[112]	ICP-AES	Digestion humide classique	Al, Ti, Zn, Mg, Fe, Cu, Mn, Cr, Pb, B,	Antibiotiques et antifongiques
[113]	ETAAS (SAA à atomisation électrothermique)	Solide (poudre)	As	Sulfate de baryum pharmaceutique
[114]	HGAAS (SAA à génération d'hydrure)	Analyse directe des échantillons	As	Antimoniote de méglumine
[115]	ICP-AES	Analyse directe des échantillons	As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, V	Amitriptyline hydrochloride, carbamazepine, clozapine, cyclobenzaprine hydrochloride, imipramine hydrochloride, ketotifen fumarate, loratadine, nortriptyline hydrochloride, promethazine Hydrochloride and tetracycline hydrochloride
[116]	la spectrométrie de fluorescence X à dispersion (WDXRFS)	Analyse directe des échantillons	Pd	Antifongique triazolé
[117]	ICP-MS	Digestion humide	Li, Be, B, Na, Al, Si,	Methylamphetamine

		classique	P, S, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Rb, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, Sn, Sb, I, Ba, Pt, Au, Hg, Pb, Bi, U	hydrochloride
[118]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Analyse directe des échantillons	Pd, Pt, Rh	Substances actives pharmaceutiques
[119]	ICP-AES	Analyse directe des échantillons	Sb(III), Sb (Total)	Antimoniote de méglumine
[120]	ICP-MS	Digestion humide classique suivie d'une minéralisation assistée par photolyse UV	Cr, Cd, Cu, Sn, Pb	Isosulfan
[121]	HGAAS (SAA à génération d'hydrure)	Solution	Sb(III), Sb (Total)	Antimoniote de méglumine
[122]	HGAAS (SAA à génération d'hydrure)	Analyse directe des échantillons	Sb(III), Sb (Total)	Antimoniote de méglumine
[123]	Spectrophotométrie UV-visible	Analyse directe des échantillons	Sb (Total)	Antimoniote de méglumine
[14]	AES	Digestion humide classique	Cr	Capsules pharmaceutiques
[124]	ICP-MS	Digestion humide assistée par micro-ondes	V, Cr, Mn, Ni, Cu, As, Mo, Ru, Rh, Pd, Cd, Os, Ir, Pt, Hg, Pb	Aspirine
[125]	HGAAS (SAA à génération d'hydrure)	Analyse directe des échantillons	As	N-methylglucamine antimonate
[126]	MIP-AES	Digestion humide classique	Al, Cr, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn	Sirop contre la toux pour enfants, collyre et antiseptique oral
[127]	ICP-MS	Digestion humide classique	As, Pb, Cd, Hg, V, Mo, Pd, Pt, Ir, Rh, Ru, Ba, Cr, Cu, Ni, Fe	Ascorbic acid, valine, galactose pharmaceutique
[128]	ETAAS (SAA à atomisation électrothermique)	Dissolution directe dans solvants suivie d'une sonication/ Digestion	Cr, Mn	Ciprofloxacine, cephalexine, azithromycine, amlodipine, méthionine.

		humide assistée par micro-ondes		
[69]	Electrophorèse capillaire	Dissolution directe dans solvants aqueux suivie d'une sonication	Fe (II), Fe (III)	Saccharose de fer pharmaceutique
[129]	(HPLC)-ICP-MS	Analyse directe des échantillons	Sb(III), Sb (Total)	Glucantime
[129]	polarographie différentielle à impulsions (DPP)	Analyse directe des échantillons	Sb(III), Sb (Total)	Glucantime
[130]	la spectrométrie de fluorescence X à dispersion (WDXRFS)	Analyse directe des échantillons	Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni	Carbamazepine, Trimipramine, Acetylsalicylic acid, Aciclovir, Metoprolol tartrate, Metoprolol succinate, Metoprolol succinate, Omeprazole, Enalapril, Atorvastatin, Diclofenac, Pipramol, Repaglinide, Fluconazol
[131]	Spectrophotométrie UV-visible	Analyse directe des échantillons après dilution	Fe	Ferrofolin®, Legofer 40®, Proteoferrina®40, Folinemic Ferro (sirop)
[47]	ICP-MS	Solution diluée après combustion	Pd, Pt, Rh	Enalapril maleate (Pd), Calcium folinate (Pt), Levodopa (Rh)
[47]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Solution diluée après combustion	Rh	Levodopa
[132]	DCP-AES	Digestion humide assistée par micro-ondes	Pd	Methotrexate
[132]	GFAAS (SAA à four à graphite)	Digestion humide assistée par micro-ondes	Fe	Methotrexate
[133]	Spectroscopie nucléaire de résonance gamma	Analyse directe des échantillons	Fe ³⁺	Ferrous bisglycinate chelate (Ferrochel®), ferrous fumarate
[134]	ICP-AES	Dissolution directe dans solvants organique	Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pd, Pt, Rh, Ru, W, Zn, Zr	Substances actives pharmaceutiques
[135]	AAS	Digestion humide assistée par micro-ondes	Pb, Cd, As, Hg, Cr, Ni, Zn,	Produits homéopathiques
[136]	Spectrophotométrie UV-visible	Analyse directe des échantillons	Cu, Pb, Zn	Ascorbic acid (Cu), glucose (Pb), insulin (Zn)

Le tableau suivant offre un aperçu sur les différentes limites de détection (LOD) obtenues avec les différentes procédures analytiques développées et utilisées pour l'évaluation du niveau des impuretés élémentaires dans les articles inclus dans notre étude. Les limites de détection sont exprimées en $\mu\text{g/g}$ ou en $\mu\text{g/l}$. Pour chaque impureté élémentaire on a essayé de relever les limite de détection obtenus avec les différentes méthodes analytiques ayant servies à sa détermination. Ainsi avec ce tableau, on a une comparaison simplifiée des limites de détection des différentes procédures analytiques pour une impureté définie.

Tableau 12 : tableau comparatif simplifié des limites de détection obtenues avec les différentes techniques analytiques

Impureté	Limite de détection ($\mu\text{g/g}$)						
	ICP-MS	ICP-AES	SAA	ELECTROCHIMIE	SFRX	UV-visible	Electrophorèse
Ag	0,01 [48] 0,15 [100] 0,000005 [16]	0,22 ^c [83] 3,5 ^c [89] 0,11 [103]					
As	0,00002 [33] 0,03 [48] 0,011 ^a : 0,056 ^b [30] 0,37 [100] 0,003 [124] 0,03 [97]	0,05 [90] 1,92 [103] 0,12 [101] 0,08 ^c [83] 2,8 ^c [89]	0,005 [113] 0,063 ^c [125] 0,165 ^c [135]				
Au	0,05 [48] 0,000019 [16]	0,12 [101] 0,34 ^c [83] 13 ^c [89]					
Bi	0,01 [48] 1,51 [100]	0,79 [103] 0,1 [101]					
Cd	0,04 [48] 0,000038 [16] 0,001 [88] 0,002 ^a : 0,012 ^b [30] 0,03 [100] 0,0021 [120] 0,006 [124]	0,04 ^c [83] 0,2 ^c [89] 0,16 [103] 0,01 [90] 0,2 [115]	0,08 [76] 0,066 ^c [135]	0,79 ^c /22 [64]			

	0,005 [97]						
Cr	0,05 [48] 0,015 [88] 0,000051 [16] 0,02 [105] 0,0483 ^c [110] 0,016 [120] 0,006 [124]	3,8 ^c [89] 0,17 [103] 0,02 [90] 0,7 [115] 0,5 [112]	0,0012 ^c [110] 0,00039 [93] 0,0024 [99] 0,06 [128] 0,04 [76]		1,617 [87]		
Cu	0,03 [48] 0,009 [88] 0,000804 [16] 0,0471 ^c [110] 0,0028 [120] 0,002 [124]	0,04 [97] 0,8 [112] 0,04 [115] 0,01 [90] 0,2 [103] 1,1 ^c [89]	0,03 [76] 0,1682 ^c [77]		16,5 [87] 0,41 [78]	261,6 ^c [136]	
Fe	2 [48] 0,018 [33]	0,04 [97] 0,16 [103] 0,06 [90] 0,3 [112]	0,429 ^c [110] 0,2 [132]		0,82 [78]	81 ^c [131]	0,0013 [69]
Hg	0,2 [48] 0,014 [88] 0,00004 [16] 0,00004 [33] 0,01 ^a : 0,053 ^b [30] 1,82 [100] 0,002 [124]	0,01 [90] 1,8 ^c [89] 0,12 ^c [83]	0,033 ^c [135]		0,67 [78]		
Ir	0,000003 [16] 0,003 [88] 0,01 [48] 0,002 [124]	0,22 ^c [83] 0,03 [90] 2 ^c [89]	0,25 [76]		0,759		
Mn	0,02 [48] 0,03 [105] 0,009 ^c [110]	0,02 [97] 0,16 [103] 0,01 [90] 0,04	0,067 [128]		16,5 [87] 1,07 [78]		

	0,002 [124]	[115] 0,2 [112]					
Mo	0,001 [88] 0,02 [48] 0,08 [100] 0,0432 ^c [110] 0,002 [124]	4,2 ^c [89] 0,02 [90]	0,1 [76]		1,02 [87]		
Ni	0,000074 [16] 0,005 [88] 0,02 [97] 0,02 [48] 0,00002 [105] 0,004 [124]	0,31 ^c [83] 0,6 [103] 0,02 [90] 0,85 [115]	1,19 ^c [98] 0,06 [76] 1,508 ^c [77] 1,32 ^c [135]		2,67 [87] 0,51 [78]		
Pb	0,000058 [16] 0,004 [88] 0,01 [97] 0,013 ^a :0,068 ^b [30] 0,01 [48] 0,005 [120] 0,006 [124]	0,07 ^c [83] 4,7 ^c [89] 0,01 [90] 2,39 [103] 2,8 [112] 2,5 [115]	0,09 [76] 0,202 ^c [77] 0,66 ^c [135]	1,9 ^c /1,9 [64]	0,62 [78]		
Pd	0,000152 [16] 0,005 [88] 0,18 [100] 0,03 [48] 0,004 [124] 0,015 [47]	0,31 ^c [83] 5,8 ^c [89] 0,02 [90] 0,25 [103] 2 [115] 0,3 [132]	6,5 [118] 0,09 [76]		0,11 [116]		
Pt	0,000003 [16] 0,009 [88] 0,03 [100] 0,02 [48] 0,002 [124] 0,0028 [47]	0,29 ^c [83] 5,8 ^c [89] 0,04 [90] 7,2 [115]	8,3 [118] 0,23 [76]		0,56 [87]		

Os	0,000134 [16] 0,1 [48] 0,002 [124]	0,77 ^c [83] 0,02 [90]			0,56 [87]		
Rh	0,000002 [16] 0,003 [88] 0,02 [48] 0,002 [124] 0,0025 [47]	0,38 ^c [83] 9,6 ^c [89] 0,01 [90] 0,08 [115]	9,3 [118] 0,03 [76] 0,02 [47]		2,6 [87]		
Ru	0,000002 [16] 0,004 [88] 0,2 [100] 0,02 [48] 0,002 [124]	0,46 ^c [83] 4,4 ^c [89] 0,01 [90] 0,2 [115]	0,0015 [107] 0,15 [76]		2,27 [87]		
Sb	0,003 [97] 0,16 [100] 0,02 [48] 0,1 ^c [129]	6,4 ^c [89]		5 ^c [129]		240 ^c [123]	
V	0,000194 [16] 0,002 [88] 0,004 [124]	0,05 [97] 0,2 ^c [83] 1,6 ^c [89] 0,01 [90] 2,5 [115]	0,06 [76]				
Zn	0,109 ^c [110] 0,04 [48] 0,002 [33] 0,15 [82]	0,25 [90] 0,23 [103] 0,2 [112]	3,3 ^c [135]		0,53 [78]		

^a: LOD obtenue avec minéralisation de l'échantillon par la méthode de combustion induite par micro-ondes (MIC)

^b: LOD obtenue avec minéralisation de l'échantillon par la méthode de digestion humide assistée par micro-ondes sous haute pression (HPA)

^c: LOD exprimée en µg/l

III. Discussion

Beaucoup de pharmacopées, telle que la pharmacopée européenne ou encore la pharmacopée américaine (USP), ont recommandé pendant plusieurs années un « essai limite des métaux lourds » dont la procédure est décrite au niveau du chapitre 2.4.8 pour la pharmacopée européenne (8^{ème} édition) et au niveau du chapitre « 231 » de l'USP, pour l'évaluation des niveaux d'impuretés élémentaires dans les médicaments et leurs matières premières. Ces différentes procédures de l'essai limite des métaux lourds, se basaient sur des réactions de précipitation à pH 3,5 sous forme de sulfures colorés sous l'action d'ions sulfure ou de réactifs capables de les reproduire. L'agent de précipitation utilisé est le thioacétamide ; le sulfure de sodium est autorisé comme option alternative, mais l'utilisateur doit en valider l'emploi pour chaque substance au moyen de solutions de contrôle. La comparaison est effectuée avec un témoin contenant une quantité connue de plomb. La teneur totale en « métaux lourds » est donc exprimée en « plomb », bien que la sensibilité pour les différents métaux ne soit pas la même. Ce qui explique le manque de spécificité de ces procédures.

Les modes de préparation des échantillons décrits aussi au niveau de ces procédures sont aussi remis en question car peu pratique. Le chapitre USP « 231 » propose trois modes de préparation des échantillons à utiliser selon les cas. La première méthode est limitée aux substances qui peuvent être dissoutes et diluées avec de l'eau uniquement. Dans la deuxième méthode, les substances à tester doivent d'abord être digérées avec du H₂SO₄ concentré, puis les résidus organiques sont carbonisés par combustion à 500 - 600° C. Les cendres minérales résultantes doivent être digérées, évaporées à sec et finalement redissoutes dans de l'eau. La troisième méthode, une méthode de digestion humide en vase ouvert, est utilisée dans les cas où aucune des deux premières méthodes ne peut être appliquée, mais elle est également longue et laborieuse [137].

Bien que simples et peu coûteux, les procédures proposées dans les chapitres « 2.4.8 » et « 231 » de la pharmacopée européenne et américaine respectivement pour l'évaluation et le contrôle des impuretés élémentaires ont été reconnus par de nombreux experts comme très limitées pour fournir des informations quantitatives et spécifiques à l'élément. La principale lacune de ces procédures est qu'elles permettent d'évaluer le niveau de 15 éléments (plomb,

cuiivre, argent, mercure, cadmium, bismuth, ruthénium, or, platine, palladium, vanadium, arsenic, antimoine, étain et molybdène) seulement [138]. Du fait de tous ces inconvénients couplés au manque de sélectivité et de sensibilité, les procédures décrites dans les chapitres « 2.4.8 » et « 231 » ont été omises des monographies récentes car devenues obsolètes. Ainsi, le chapitre « 231 » a été remplacé par le chapitre « 233 » au niveau de l'USP. Dans la 9e Édition de la Pharmacopée Européenne, la référence au chapitre général Métaux lourds (2.4.8) a été supprimée de toutes les monographies individuelles portant sur des substances pour usage pharmaceutique.

Le chapitre USP «233» recommande l'usage de techniques instrumentales modernes telles que les techniques spectroscopiques à plasma à couplage inductif (ICP) pour remplacer les tests colorimétriques. Leur procédure et technique de détection sont décrites dans le chapitre :

- Procédure 1 peut être utilisée pour les impuretés élémentaires généralement susceptibles d'être détectées par ICP-AES,
- Procédure 2 peut être utilisée pour les impuretés élémentaires généralement susceptibles d'être détectées par ICP-MS.

Avant la première utilisation, l'analyste doit vérifier que la procédure est appropriée pour l'instrument et l'échantillon utilisé (vérification procédurale) en répondant aux exigences de validation de la procédure alternative. D'autres méthodes d'analyse alternatives peuvent être utilisées à condition qu'il puisse être démontré qu'elles répondent aux exigences de performance et de validation de la procédure définies dans le chapitre.

A partir des années 1990, les chercheurs ont commencé à s'intéresser à l'application des méthodes analytiques basées sur le plasma à couplage inductif (ICP) pour l'évaluation des niveaux d'impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques, mais aussi dans l'eau, les aliments et l'environnement. Contrairement aux tests colorimétriques, les méthodes analytiques basées sur le plasma à couplage inductif (ICP) présentent une meilleure spécificité et une sensibilité accrue. En plus avec l'ICP-MS, il était possible d'avoir une spéciation afin d'évaluer les métaux à divers degré d'oxydation. Ainsi, plusieurs travaux se sont consacrés à

élaborer une revue des articles scientifiques consacrés à la détermination des impuretés élémentaires par des méthodes basées sur le plasma à couplage inductif (ICP). Nageswara Rao et al. ont établi une revue des articles scientifiques, couvrant la période de 1995 à 2005, travaillant sur les applications récentes de la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) dans la détermination des traces d'impuretés inorganiques dans les médicaments et les produits pharmaceutiques [2]. Dans leur revue, l'ICP-MS couplé avec la chromatographie liquide, la chromatographie gazeuse et l'électrophorèse capillaire a été utilisé pour la spéciation des métaux lourds dans les produits pharmaceutiques. La spéciation fournit des informations précieuses sur le profilage des impuretés des médicaments et des produits pharmaceutiques. Par exemple, l'arsenic est présent dans une grande variété de composés de toxicité très différente. Les composés inorganiques tels que l'arsénite et l'arséniate sont connus pour être hautement toxiques, tandis que les composés organiques sont généralement considérés comme non toxiques. Les acides tels que l'acide diméthylarsinique et l'acide monométhylarsonique ont des toxicités intermédiaires. D'où l'importance et la nécessité de coupler l'ICP-MS avec la HPLC ou la CPG afin de déterminer surtout les composés organiques des métaux. Dans la même orientation, J.S. Barin et al. ont réalisé une revue de la littérature des articles ayant évolué l'adéquation des méthodes basées sur ICP (par exemple, ICP-AES et ICP-MS) pour la détermination des métaux et métalloïdes dans les matériaux pharmaceutiques (produits médicamenteux, matières premières et intermédiaires), couvrant la période entre 2005 et 2015 [139]. Pohl et al. ont rédigé un article passant en revue les articles de recherche et développement (R&D) et les articles scientifiques consacrés à la détermination des impuretés élémentaires par spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif et spectrométrie de masse (ICP-AES et ICP-MS) dans différents produits pharmaceutiques publiés depuis 2000 [1]. Le point commun de toutes ces revues est le fait qu'elles se sont toutes intéressées uniquement aux articles ayant développés des méthodes basées sur le plasma à couplage inductif (ICP). De ce fait, face au manque d'articles établissant une revue généralisée, notre revue revêt toute son importance en ce sens qu'elle vient combler un vide et apporter des informations sur les autres méthodes analytiques alternatives telles que la spectroscopie d'absorption atomique [76, 77], la spectrométrie de fluorescence des rayons X [78], les méthodes électrochimiques [64]. Notre revue s'est

intéressée aux articles scientifiques consacrés à l'évaluation des niveaux d'impuretés élémentaires par des méthodes basées sur le plasma à couplage inductif (ICP) mais aussi aux articles ayant utilisés d'autres méthodes analytiques jugées convenables car répondant aux exigences de validation analytique spécifiées au niveau du chapitre « 233 » de l'USP.

Concernant le nombre d'articles inclus dans la revue, notre revue a concerné 74 articles, tandis que celle réalisée par J.S. Barin et al. a concerné 24 articles et celle établie par Nageswara Rao et al. a concerné 28 articles. Cette différence concernant le nombre d'articles recensés peut s'expliquer d'une part par l'étendue de la période concernée par la revue et d'autre part par une restriction du domaine d'étude.

En ce qui concerne l'étendue de la période d'étude, notre revue s'est intéressée aux articles publiés entre 2000 et 2019 couvrant donc une période de vingt ans. La revue réalisée par J.S. Barin et al. a concerné les articles publiés entre 2005 et 2015, couvrant ainsi une période de onze ans. La revue élaborée par Nageswara Rao et al. a concerné des articles publiés entre 1995 et 2005, couvrant une période de onze ans.

En ce qui concerne le domaine d'étude, notre revue s'est intéressée aux articles ayant évalués les niveaux des impuretés par les méthodes analytiques basées sur l'ICP mais aussi à ceux ayant évalué les niveaux d'impuretés par d'autres méthodes analytiques jugées alternatives. Tandis que la revue réalisé par J.S. Barin et al. s'est intéressée uniquement aux articles ayant évalués les niveaux des impuretés par des méthodes analytiques basées sur l'ICP. Nageswara Rao et al. ont plus restreint le domaine d'étude en s'intéressant uniquement aux articles ayant évalués les niveaux des impuretés par ICP-MS.

La figure 30 met en évidence la prédominance d'utilisation des méthodes analytiques autre que ceux basées sur l'ICP de 2000 à 2009. Cependant, à partir de 2010 la tendance s'est inversée ; on remarque une recrudescence de l'emploi des méthodes analytiques basées sur l'ICP au niveau des articles publiés. Cette configuration s'apparente à celle de la figure présentée dans la revue de J.S. Barin et al. intitulé *“Articles published from 2005 to 2015 (up to October 2015) regarding to the use of inductively coupled plasma (ICP)-based and atomic absorption spectrometry (AAS) methods for the determination of elements elemental impurities in pharmaceutical products”*.

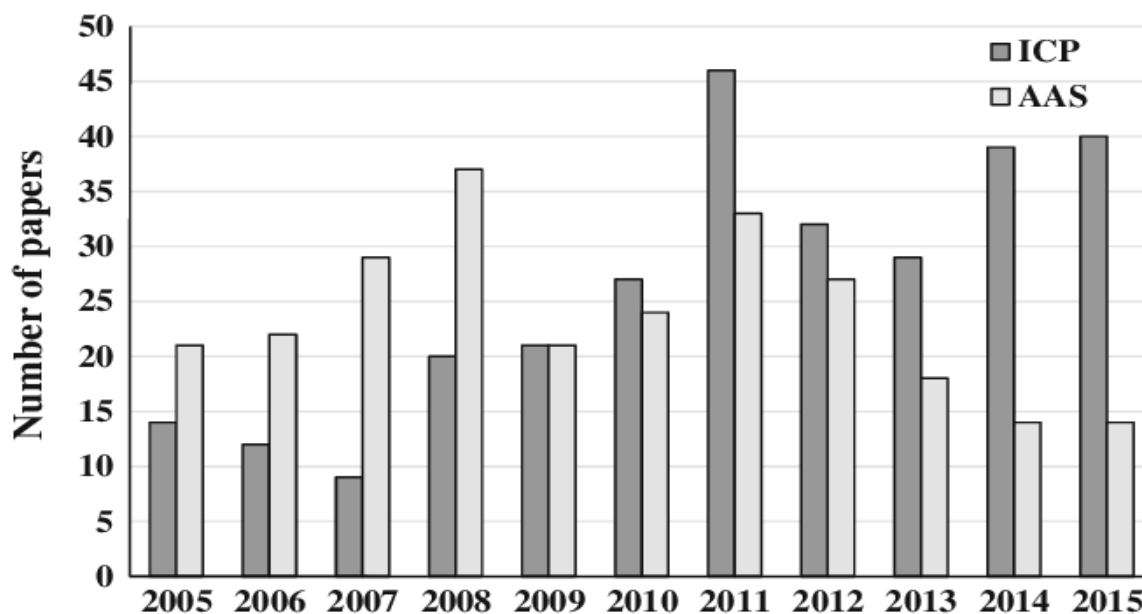


Figure 33:Articles publiés de 2005 à 2015 concernant l'utilisation de méthodes basées sur l'ICP et les méthodes SAA pour la détermination des impuretés élémentaires dans les médicaments tirée de la revue de l'article de J.S Barin et al. [139]

L'utilisation de méthodes basées sur ICP pour la détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques était moins courante dans le passé, mais elle augmente et il est prévu que les méthodes basées sur ICP en premier et les méthodes SAA soient la méthode de choix dans ce domaine. Comme le montre la figure 30, depuis 2010, le nombre d'articles signalant l'utilisation de méthodes basées sur l'ICP a dépassé le nombre d'articles signalant l'utilisation de méthodes SAA ou autres méthodes jugées alternatives, et il est prévu que la différence entre la fréquence d'utilisation de ces techniques va encore augmenter dans les années à venir. Les données tirées de l'analyse des articles recensés et matérialisées dans le diagramme de secteur de la figure 31 viennent conforter les arguments avancés sur la prédominance de l'utilisation des méthodes analytiques basées sur l'ICP. Dans notre revue, 51% des articles recensés ont utilisé une méthode analytique basée sur l'ICP : 35% des articles ont employé l'ICP-MS et 16% ont utilisé l'ICP-AES. 28% des articles ont utilisé la méthode SAA, 4% des articles ont utilisé une méthode électrochimique, 4% ont employé l'UV-Visible, 2% ont utilisé la méthode SEA à flamme afin d'évaluer les niveaux d'impuretés élémentaires. Ainsi, comme mentionné ultérieurement, les méthodes analytiques basées sur l'ICP sont les plus utilisées, suivies des méthodes SAA, après viennent les

méthodes électrochimiques et autres méthodes jugées alternatives car répondant aux exigences de performance et de validation spécifiées.

En plus des caractéristiques distinctives des méthodes basées sur l'ICP, deux documents importants, celui de l'Agence européenne des médicaments [140] et celui de l'USP [141], tous deux publiés en 2008, font référence à l'évaluation des impuretés élémentaires par des méthodes analytiques basées sur l'ICP. Ces références ont certainement contribué à accroître l'intérêt de l'utilisation des méthodes basées sur l'ICP. Ces documents ont aussi indiqué l'importance de l'établissement de limites de concentration pour chaque élément en fonction du mode d'administration et de l'exposition journalière autorisée, montrant de ce fait la nécessité de disposer de méthodes analytiques capable de déterminer quantitativement les concentrations de chaque impureté dans les produits pharmaceutiques. En ce sens, les méthodes basées sur l'ICP ont été considérées comme une alternative appropriée, compte tenu du nombre élevé d'éléments à déterminer, et de nouveaux chapitres généraux pour la détermination des impuretés élémentaires dans les médicaments et leurs matières premières ont été ajoutés aux pharmacopées européennes et américaines. Dans ces pharmacopées, l'utilisation de techniques de spectrométrie atomique, notamment ICP-AES et ICP-MS, est recommandée. Par conséquent, l'intérêt pour la détermination des impuretés élémentaires par des méthodes basées sur l'ICP devrait augmenter encore plus, compte tenu de la nécessité de mise en œuvre de ces méthodes par l'industrie pharmaceutique.

Une caractéristique importante des méthodes basées sur l'ICP est la limite de détection relativement basse (LOD), qui atteint généralement des microgrammes par litre pour l'ICP-AES [90, 103, 112, 115] et des nanogrammes par litre pour l'ICP-MS[16, 120, 124]. L'ICP-MS offre des limites de détection extrêmement basses allant de la sous-partie par milliard (ppb) au billion (ppt) pour la plupart des éléments. Il a une capacité de balayage multi-éléments rapide sur une large gamme de masses avec des limites de détection inférieures par rapport aux GF-AAS et ICP-AES. Dans la plupart des cas, les limites de détection sont 100 à 1 000 fois supérieures à celles atteintes par ICP-AES[142, 143]. La même situation est constatée dans notre revue, au niveau du tableau 12 comparant les LODs obtenus avec les différentes méthodes d'analyse, c'est l'ICP-MS qui présente les plus faibles valeurs de LODs.

Ces résultats sont en phase avec ceux de Pohl et al. qui ont comparé les LODs obtenues avec l'ICP-MS et l'ICP-AES. Un aperçu des données obtenues par Pohl et al. est présenté dans le tableau 13. Ces limites de détection faibles obtenues avec l'ICP-MS sont largement atteintes pour presque toutes les impuretés élémentaires. En outre, la nature simple des spectres de masse des éléments en fait un outil rapide pour une analyse qualitative et quantitative automatisée. Les limites de détection dépendent généralement de l'élément, de la matrice de l'échantillon, de la préparation et des conditions instrumentales utilisées pour l'analyse.

Tableau 13 : tableau comparatif des LODs obtenues avec l'ICP-MS et l'ICP-AES tiré de la revue de Pohl et al. [1]

Impuretés	ICP-MS			ICP-AES		
	LOD (µg/g)	Précision (%)	Robustesse (%)	LOD (µg/g)	Précision(%)	Robustesse(%)
Ag	0,0005	3.0-4.0	98-99	0,11		
	0,008	1		0,12		101
As	0,00001		104-106	0,05	1.7-3.2	93-94
	0,00002	1.3-12	80-112	0,07	4.8-6.9	
Cd	0,00001	0.6-4.3	88-99	0,004	1.2-1.4	
	0,0002	2		0,01	2.8-4.3	94-97
Pb	0,0001	0.5-13	80-104	0,01	2.2-3.1	93-96
	0,0004	4.3-5.2	97-100	0,03		94

Bien que les techniques à base de plasma présentent un nombre important d'avantages comme décrit précédemment, la détermination des impuretés élémentaires par ICP-AES et ICP-MS est affectée par des interférences spectrales et non spectrales. Pour cette raison, elles peuvent être considérées comme des méthodes moins robustes contrairement à d'autres (par exemple, SAA avec des atomiseurs à flamme ou à four graphite). En général, ICP-MS est nettement plus sujet aux interférences que l'ICP-AES. Pohl et al. ont rapporté que la robustesse est meilleure avec l'ICP-AES qu'avec l'ICP-MS. Des interférences spectrales sont observées si d'autres espèces sont détectées à la même longueur d'onde (ou très proche) ou au même rapport m/z du ou des analytes pour les instruments ICP-AES et ICP-MS respectivement. Les interférences non spectrales peuvent provoquer une suppression ou une

augmentation du signal et se produisent généralement si la composition de l'échantillon est très différente de celle des solutions analytiques, ce qui entraîne des résultats biaisés. Cette différence de la composition de l'échantillon avec celle de la solution analytique est due en général aux dilutions de l'échantillon avant analyse proprement dite. En utilisant la SAA ou l'ICP-AES, les échantillons n'ont pas besoin d'être dilués au point de minimiser indirectement les sources de contamination et les erreurs de dilution manuelle[93, 99, 103, 113, 115]. Ce qui réduit les risques d'interférences et améliore la robustesse. Par conséquent, les méthodes analytiques SAA et ICP-AES peuvent être parfaites en cas d'analyse de matériel brut: excipients, comprimés, mais également d'autres produits médicamenteux nécessitant peu ou pas de dilution ou des échantillons dont la matrice est rapidement changée d'un échantillon à un autre [144]. Par conséquent, la composition principale des produits pharmaceutiques, le type de solvant, les sels dissous, le carbone résiduel et l'acidité des produits de digestion doivent être pris en compte. De ce fait, la composition des produits pharmaceutiques doit être évaluée avant l'analyse afin d'identifier les interférences potentielles.

L'ICP-MS s'est révélée être l'une des techniques d'analyse les plus sensibles pour la détermination rapide multi-éléments de métaux lourds en concentrations traces et ultra traces dans différentes matrices d'échantillons [45]. Récemment, elle est devenue une technique puissante et à l'heure actuelle, c'est la technique la plus appropriée pour l'analyse des oligo-éléments dans les médicaments en vrac et les produits pharmaceutiques. Plébiscitée par l'USP en tant que technique analytique de référence pour l'évaluation des impuretés élémentaires, l'ICP-MS est la technique la plus utilisée dans les articles inclus dans notre revue. Dans cette dynamique, on la retrouve dans 35% des articles. Da Silva, C.S., et al. [81] ont utilisé l'ICP-MS afin d'évaluer le niveau d'As, de Cd, de Hg et de Pb dans plusieurs spécialités pharmaceutiques (par exemple, levothyroxine sodium, gestodène, paracétamol, metformin, ...), par analyse de solutions obtenues après une digestion acide assistée par micro-onde. Wollein, U., et al. [82] ont employé l'ICP-MS pour évaluer le niveau des impuretés (Mn, Co, Ni, Mo, Ru, Rh, Pd, Cd, Sn, Sb, Ir, Pt, Pb) dans plusieurs spécialités pharmaceutiques (par exemple, captopril, enalapril, carbamazépine, diclofénac, ...), par analyse de solutions obtenues après une digestion acide assistée par micro-onde. L'ICP-MS couplée à un système d'ablation laser (LA-ICP-MS) a été utilisée par Rudovica, et al. [84] afin de déterminer le

niveau de Mn, de Co, de Ni, de Cu, de Pb, de Cd dans l'arbidol par analyse direct des échantillons sous forme de poudre comprimée en pellets. Chahrour, O., et al. [86] ont aussi employé l'ICP-MS pour évaluer le niveau des impuretés (Cd, Pb, As, Hg, Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Cr, Mo, Ni, V, Cu) dans la substance active dénommée TP-6076, par analyse de solutions obtenues après une digestion acide. Toutes ces applications viennent confirmer le fait que l'ICP-MS fournit un service majeur à l'industrie pharmaceutique dans l'analyse des métaux lourds dans les médicaments et matières premières.

Outre l'ICP-MS, parmi les techniques analytiques basées sur l'ICP on trouve l'ICP-AES. La spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) joue aussi un rôle important dans l'analyse des métaux lourds dans les produits pharmaceutiques. Son utilisation est décrite au niveau de la procédure 1 du chapitre « 233 » de l'USP. Elle est la troisième technique la plus utilisée dans les articles inclus dans notre revue. On la retrouve dans 16% des articles, derrière la SAA (28%) et l'ICP-MS (35%). Da Silva, C.S., et al. [81] ont utilisé l'ICP-AES afin d'évaluer le niveau d'As, de Cd, de Hg et de Pb dans plusieurs spécialités pharmaceutiques (par exemple, levothyroxine sodium, gestodène, paracétamol, metformin, ...), par analyse de solutions obtenues après une digestion acide assistée par micro-onde. Menoutis, J., A. Parisi, et N. Verma [83] ont employé l'ICP-AES pour évaluer le niveau des impuretés (Mn, Co, Ni, Mo, Ru, Rh, Pd, Cd, Sn, Sb, Ir, Pt, Pb, V, Os, Au, Se, Hg, As, Ag) dans l'aspirine et le lisonopril, par analyse de solutions obtenues après une digestion acide assistée par micro-onde des échantillons. L'ICP-AES a été utilisée par Zachariadis, G.A. et C.E. Michos,[103] afin de déterminer le niveau des impuretés élémentaires (Ag, Al, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn, As, Be, Pd, Se) dans des échantillons d'antibiotiques introduits sous forme de suspension de poudre. L'ICP-AES est une technique multi-élémentaire avec une robustesse meilleure que l'ICP-MS mais avec une précision moindre à des niveaux d'ultra trace.

L'AAS est probablement la technique la plus largement utilisée pour la détermination des métaux lourds dans différentes matrices d'échantillons (solution après digestion acide assistée par micro-onde [82, 145], solution après dissolution dans solvant organique [107], poudre [93, 99]). Généralement, la SAA à flamme (FAAS) est utilisé lorsque la concentration

de l'analyte est suffisamment élevée et la SAA au four en graphite (GF-AAS) lorsqu'il est faible. La SAA est la deuxième technique analytique la plus utilisée dans les articles de notre revue. De ce fait, elle est utilisée dans 28% des articles. Wollein, U., et al. [82] ont utilisé la SAA à vapeurs froides (CVAAS) pour la détermination de Hg, la SAA à génération d'hydrures (HGAAS) pour la détermination d'As et la SAA à four de graphite (GFAAS) pour la détermination de Cr. La SAA à four de graphite (GFAAS) a été utilisée par Mattiazzi, P., et al. [76] afin d'évaluer la teneur des impuretés (Cd, Pb, Pd, V, Cr, Mo, Ni, Cu, Ir, Pt, Rh, Ru) dans le losartan, la simvastatine et l'oméprazole, par analyse de solutions obtenues après digestion acide assistée par micro-onde. La SAA à atomisation électrothermique (ETAAS) a été utilisée par Jurowski, K., et al. [94] afin d'évaluer le niveau de Pb et de Cd dans des gels d'anesthésiques locaux, par analyse des solutions obtenues après digestion acide assistée par micro-onde des échantillons. Cependant, l'application de la SAA à l'analyse des impuretés est limitée en raison de limites de détection relativement élevées par rapport à l'ICP-MS et un temps d'analyse aussi élevé de l'ordre de 4 min/élément pour la GFAAS [26]. A cela s'ajoute le fait qu'elle ne permet pas de réaliser une analyse multiéléments, des lampes à cathode creuse très spécifiques sont utilisées pour la détermination de chaque impureté.

Une autre méthode analytique alternative prometteuse est la spectrométrie de fluorescence X. On distingue la spectrométrie de fluorescence X à réflexion totale (TXRF) et la spectrométrie de fluorescence X à dispersion (WDXRFS). Elle se présente comme une méthode alternative de choix pour la détermination des métaux lourds car elle offre potentiellement des avantages par rapport aux méthodes basées sur l'ICP ou la SAA. Le principal avantage de cette technique analytique réside dans le fait qu'elle permet une analyse directe des échantillons solides ou liquides. De ce fait, les produits pharmaceutiques peuvent être analysés par cette technique avec une préparation d'échantillons minimale et des effets de matrice négligeables dans la plupart des cas. Un autre avantage est le coût par analyse qui peut être considérablement réduit car aucun autre produit chimique ou manipulation compliquée d'échantillon n'est requis. En plus, la spectrométrie de fluorescence X est une technique analytique rapide pour le criblage des impuretés élémentaires et l'analyse quantitative simultanée de plusieurs éléments [63]. 8% des articles de notre revue ont utilisé cette technique afin d'évaluer le niveau des impuretés élémentaires dans les produits

pharmaceutiques. Antosz, F.J., et al. [79] ont utilisé la spectrométrie de fluorescence X à réflexion totale (TXRF) afin de déterminer les niveaux d'Al, de K, de Ca, de Fe, de Ni, de Sr et de Pd dans les substances actives. Tous les échantillons ont été préparés comme solutions homogènes avant de les transférer sur un porte-échantillon et de les sécher à l'aide d'une plaque chauffante maintenue à basse température ou sous vide. La méthode a été validée comme recommandé par l'USP ; le coefficient de linéarité (R) est ≥ 0.998 pour tous les éléments, l'exactitude est comprise entre 87% et 135% et les limites de détection obtenues sont ≤ 0.1 µg/ml. Shaw, B.J., et al. [85] ont aussi utilisé la spectrométrie de fluorescence X à réflexion totale (TXRF) afin de déterminer les niveaux de plusieurs éléments (Cr, Fe, Cu, Rh, Pd, Pt). Figueiredo, A., et al. [87] ont utilisé la spectrométrie de fluorescence X à dispersion (WDXRFS) afin de déterminer le niveau de plusieurs impuretés (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru, V) dans les produits pharmaceutiques et dans les compléments alimentaires. Les échantillons ont été analysés directement sous forme de poudre. La linéarité de la méthode a été démontrée par des coefficients de corrélation supérieurs à 0,9. Les limites de détection et de quantification calculées étaient comprises entre 0,6 et 5,4 µg/g et 1,7 et 16,4 µg/g répondant aux critères d'acceptation définis, à l'exception du Pb. Marguá, E., et al. [62] ont travaillé sur la détermination de certaines impuretés élémentaires (Fe, Zn, Cr et Ni) dans les substances actives par spectrométrie de fluorescence X dispersive (WDXRF) développée et validée selon les limites de spécification de l'Agence européenne pour l'évaluation des médicaments (EMA). Pour l'analyse, les échantillons et les étalons ont été préparés sous forme de pastilles de poudre pressée sans addition d'un liant, ce qui réduit les effets de matrice.

Parmi les méthodes alternatives utilisées dans les articles de notre revue figure les méthodes électrochimiques, en particulier la voltamétrie. Cette dernière est utilisée dans 4% des articles. Les techniques électrochimiques sont des alternatives intéressantes aux méthodes basées sur l'ICP. En plus de posséder des capacités de détection multi-éléments, elles nécessitent une instrumentation dont la maintenance et l'exploitation sont relativement peu coûteuses. De plus, ce sont des techniques extrêmement rapides et sensibles, avec des limites de détection dans la gamme ppb (µg/l). Rosolina, S.M., et al. [64] ont développé et utilisé une méthode électrochimique de type voltamétrie, en utilisant une électrode en carbone vitreux

non modifiée, pour détecter et quantifier le Cd et le Pb, simultanément ou individuellement, dans du kétoprofène et dans du lactose. Aucun prétraitement des échantillons (minéralisation) n'est nécessaire. Les échantillons ont été directement solubilisés dans de l'eau mais aussi dans un solvant organique (DMSO/eau : 95/5). Des limites de détection dans la gamme du $\mu\text{g/l}$ ont été obtenues pour le Cd et pour le Pb. Pierini, G.D., et al. [96], de leur côté, ont développé et utilisé une technique voltamétrique utilisant une électrode de bismuth, pour la détermination simultanée du Zn, du Cd, du Pb et du Cu dans le propolis. Ce dernier est utilisé comme antibiotique. Les électrodes de bismuth sont utilisées, à la place des électrodes de mercure souvent utilisées, car le bismuth est considéré comme un élément écologique, avec une très faible toxicité. La méthode DPP (polarographie différentielle à impulsions) a été utilisée par Séby, F., et al. [129], afin de déterminer les niveaux de Sb (dans ces différentes formes d'oxydation) dans du Glucantime®. Une aliquote de 50 μL de Glucantime® est ajoutée dans la cellule électrochimique contenant 20 mL d'acide chlorhydrique 0,6 M. Le pic du Sb (III) a été observé à -150 Mv.

Au niveau de la figure 32, on a un aperçu sur les différentes techniques analytiques utilisées dans la détermination des différentes impuretés élémentaires. Ainsi le niveau d'As a été déterminé dans le plus souvent par ICP-MS avec des LODs comprises entre 0.00002 et 0,37 $\mu\text{g/g}$ [30, 33, 48, 97, 100, 124], suivi des déterminations par ICP-AES avec des LODs comprises entre 0,05 et 1,92 $\mu\text{g/g}$ [83, 89, 90, 101, 103]. Il a été aussi recherché par la SAA avec des LODs pouvant descendre jusqu'à 0,005 [113], mais aussi par la spectrométrie de fluorescence X.

Les techniques analytiques utilisées pour la détermination du Cd sont, selon l'ordre de fréquence d'utilisation décroissante, l'ICP-MS, l'ICP-AES, la SAA, la spectrométrie de fluorescence X et la voltamétrie. Les LODs obtenues avec l'ICP-MS sont comprises entre 0,000038 et 0,04 $\mu\text{g/g}$ [16, 30, 48, 88, 97, 100, 120, 124]. Les LODs obtenues avec l'ICP-AES sont comprises entre 0,01 et 0,2 $\mu\text{g/g}$ [83, 89, 90, 103, 115]. La détermination du Cd par SAA a été réalisée avec des LODs atteignant les 0,08 [76].

Les techniques analytiques utilisées pour la détermination du Pb sont, selon l'ordre de fréquence d'utilisation décroissante, l'ICP-MS, l'ICP-AES, la SAA, la spectrométrie de

fluorescence X , la voltamétrie et la spectrophotométrie UV-Visible. Les LODs obtenues avec l'ICP-MS sont comprises entre 0,000058 et 0,01µg/g [16, 30, 48, 88, 97, 120, 124]. Les LODs obtenues avec l'ICP-AES sont comprises entre 0,01et 2,8 µg/g [83, 89, 90, 103, 112, 115]. Le Pb a été aussi déterminé par SAA avec des LODs avoisinant les 0,09 µg/g [76].

La figure 32 met en évidence la prépondérance de l'utilisation de l'ICP-MS dans la détermination des différentes impuretés élémentaires. Elle s'apparente à celle de Nageswara Rao et al. (figure 34), à quelques exceptions près ; le Pb, le Cu et le Cr ont été déterminés dans la majorité des cas par la SAA.

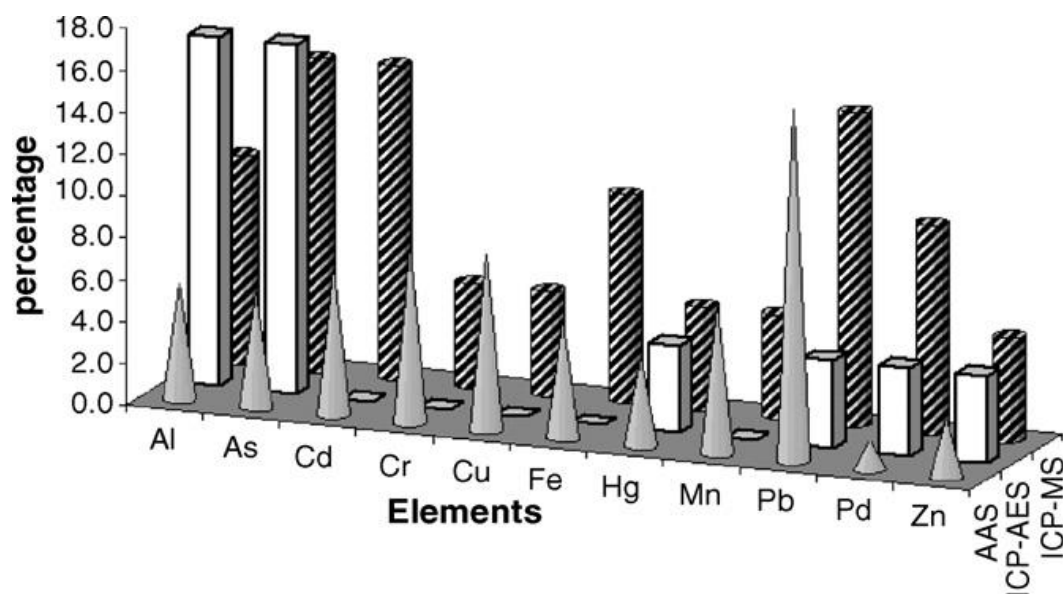


Figure 34: Utilisation des techniques de spectrométrie atomique dans la détection des impuretés élémentaires dans les médicaments entre 1995 et 2005 [2]

Les différentes stratégies de préparation d'échantillons rencontrées dans les articles dont notre revue s'est intéressée sont :

- La dissolution directe dans des solvants aqueux ou organiques,
- La minéralisation humide ou digestion humide
- Analyse directe d'échantillons solide

La dissolution en milieu aqueux ou en milieu organique est généralement effectuée avec des solutions acides diluées (par exemple, des solutions diluées de HCl ou de HNO₃) [20, 76,

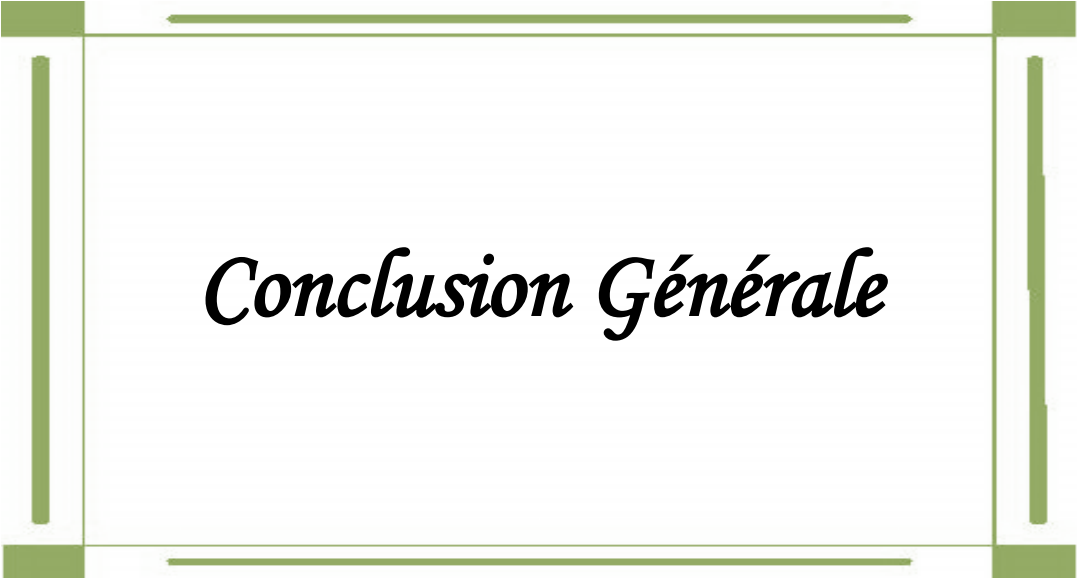
79, 85, 92]. Les solvants organiques couramment utilisés sont la THF et la DMSO. La masse de l'échantillon qui doit être dissoute est limitée à quelques milligrammes (de 10 à 100 mg) principalement pour minimiser les interférences causées par la teneur en carbone de l'échantillon. Cette limitation de la masse de l'échantillon altère les LODs, mais réduit le contenu organique introduit dans la chambre d'analyse. Une autre alternative pour introduire de petites quantités d'échantillons et par conséquent réduire la teneur en carbone est l'utilisation de systèmes d'injection de flux pour l'acquisition de signaux transitoires au lieu de signaux continus [32, 33]. Par rapport aux méthodes de minéralisation, la dissolution en solution aqueuse convient le mieux pour certains éléments tels que l'osmium, qui peuvent être perdus même lorsque des vases closes sont utilisées dans les systèmes de digestion [33]. Cependant, le principal inconvénient des méthodes utilisant la dissolution en solution aqueuse ou organique est la faible solubilité de nombreuses impuretés élémentaires.

La digestion humide ou minéralisation humide des échantillons se fait principalement avec des acides oxydants, l'acide nitrique étant le plus couramment utilisé en raison de son pouvoir oxydant approprié. Des mélanges de HNO_3 avec HCl , HF , HClO_4 , H_3PO_4 et H_2SO_4 sont également utilisés, selon la matrice, l'analyte et/ou système de digestion [146]. Bien que la digestion humide puisse être effectuée dans des systèmes ouverts ou fermés, les minéralisations humides en vase close sont préférées. L'utilisation de récipients fermés lors de la digestion est considérée comme avantageuse car il est possible d'utiliser une température de digestion plus élevée sans des pertes d'acide ou d'analytes. La digestion acide assistée par micro-ondes est l'un des types de minéralisation humide en vase close les plus utilisés. Elle présente des avantages évidents par rapport à la digestion acide traditionnelle en termes de meilleure récupération des éléments volatils, de contamination moindre, de volumes minimaux de réactifs, de procédures plus reproductibles et d'un meilleur environnement de travail. Elle est très utilisée dans les procédures utilisant une technique analytique basées sur l'ICP. Da Silva, C.S., et al. ont utilisé la digestion acide assistée par micro-ondes pour la détermination de l'As, du Cd, du Hg et du Pb dans les médicaments et dans les excipients par des techniques à base d'ICP. Ainsi, des masses d'environ 100 et 500 mg ont été pesées avec précision directement dans les récipients de digestion Teflon-perfluoroalkoxy alcanes (PFA). La digestion acide était réalisée dans un four à micro-ondes. Le programme de chauffage par

micro-ondes a été appliqué comme suit: (1) 2 minutes pour atteindre 170 °C, (2) 5 minutes de maintien à 170 °C, (3) 2 minutes pour atteindre 190 °C, (4) 10 minutes de maintien à 190 °C, (5) 2 minutes pour atteindre 210 °C et (6) 20 minutes de maintien à 210 °C [81]. Wollein, U., et al. [82] ont aussi utilisé la digestion acide assistée par micro-ondes avec un programme de température de 85°C pendant 8 minutes, chauffage à 130°C pendant 5 minutes, augmentation de la température jusqu'à 200°C et maintien à 200°C pendant 30 min. Cependant, bien que l'utilisation de fours à micro-ondes permette des temps de digestion plus courts, le principal inconvénient de ces procédures est le temps de refroidissement important requis avant l'ouverture des récipients à haute pression. Pour pallier à cette limite, une digestion acide assistée par photolyse a été développée et utilisée par Dash, K., et al. [120] pour la minéralisation du colorant bleu isosulfan avant la détermination de ses teneurs en Cr, Cd, Cu, Sn et P par ICP-MS. De par leur approche, la minéralisation de la matrice organique implique le traitement de l'échantillon avec un rayonnement ultraviolet à la place du four à micro-ondes. L'efficacité du processus de photolyse a été évaluée en mesurant la teneur en carbone organique total (COT).

L'analyse directe des échantillons, quand elle est réalisable, semble être la meilleure stratégie de préparation des échantillons. L'analyse directe réduit considérablement les effets de matrice dus aux dilutions et le risque de contamination qui constitue une exigence essentielle lorsque des traces de métaux doivent être déterminées. En plus, elle permet d'éviter les risques de pertes d'analytes et l'utilisation de produits chimiques corrosifs et dangereux pendant le prétraitement de l'échantillon. Ainsi, Rudovica, V., et al. [84] afin d'analyser directement les échantillon, pour se soustraire des effets de la matrice, ont utilisé la technique LA-ICP-MS. La LA-ICP-MS est munie d'un système d'ablation laser qui permet d'analyser des solides comprimés sous forme de pellets. L'analyse directe des solides par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique (DSS-ETAAS) a été aussi proposée comme une bonne alternative aux méthodes d'analyse conventionnelles où des problèmes liés à des effets de matrice ou des difficultés de digestion des échantillons sont présents. L'utilisation de la DSS-ETAAS, pour la détermination du Cr et d'As à de faibles niveaux dans le BaSO₄, a été effectuée par Bolzan, R.C., et al. [99, 113] et présente des avantages par rapport aux techniques conventionnelles basées sur l'analyse par voie humide, compte tenu de

la très faible solubilité du BaSO_4 . A l'image de l'analyse directe des solides par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique (DSS-ETAAS), la vaporisation électrothermique (ETV) associée à ICP-AES ou ICP-MS permet une analyse directe des échantillons solides. Ainsi, afin de pallier à la décomposition difficile avec les acides des composés tricycliques, Kaczala, S., et al. [115] ont utilisé la spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif par vaporisation électrothermique d'échantillon solide (ETV-ICP-AES) pour la détermination d'As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Rh, Ru et V dans les produits pharmaceutiques tricycliques. La spectrométrie d'absorption atomique à four en graphite (GFAAS) peut être logée à la même enseigne que la LA-ICP-MS, la DSS-ETAAS et la ETV-ICP-AES car elle permet l'analyse de toutes sortes d'échantillons solides avec une préparation d'échantillons minimale à nulle [93, 118].



Conclusion Générale

La détermination des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques, dans leurs matières premières et dans leurs articles de conditionnement n'est pas une tâche facile. C'est en générale une détermination à l'état de trace qui nécessite des méthodes analytiques très sensible et très spécifique, justifiant une LOD de l'ordre de $\mu\text{g/g}$. De ce fait, à partir des années 2010, l'application des techniques analytiques instrumentales modernes pour la détermination qualitative et quantitative des impuretés élémentaires a considérablement augmenté au cours des années. Cela est principalement dû aux nombreux avantages de ces méthodes instrumentales par rapport aux tests limites conventionnels qui étaient décrits dans les pharmacopées et qui ont été remplacés par la suite. Ainsi, on trouve dans le chapitre « 233 » de l'USP deux procédures analytiques basées sur l'ICP (ICP-MS et ICP-AES) pour l'évaluation des niveaux d'impuretés élémentaires. Les méthodes analytiques basées sur l'ICP sont devenues largement utilisées en raison de leurs capacités à réaliser des analyses rapides et à déterminer plusieurs éléments à la fois. Ce qui les rend adaptées à l'analyse de routine. À côté, d'autres techniques instrumentales trouvent aussi leur application dans l'évaluation des niveaux des impuretés élémentaires, à condition qu'elles répondent aux exigences de validation analytique. Parmi ces techniques instrumentales on distingue la SAA, la SFRX, la voltamétrie. La sélection d'une technique analytique nécessite la prise en compte de plusieurs critères importants, notamment les limites de détection, la plage de travail analytique, le débit d'échantillonnage, les effets d'interférence, la facilité d'utilisation et le coût.

Plusieurs stratégies de préparation d'échantillons sont disponibles, notamment la dissolution dans l'eau ou dans les solvants organiques, la digestion acide assistée par micro-ondes, la digestion acide assistée par photolyse, combustion dans des récipients fermés, conduisant à des niveaux de détection appropriés pour tous les éléments de préoccupation pharmaceutique. Cependant, l'analyse directe des échantillons, si elle est possible, est préconisée car permet de réduire le temps d'analyse, le coût, mais aussi elle limite les risques de contamination et d'effets de la matrice. Ainsi, des moyens pour analyser directement les échantillons solides avec l'ICP-AES ou avec l'ICP-MS ont été développés, à l'aide de dispositifs de vaporisation électrothermique (ETV) ou d'ablation laser (LA), avec de bonnes performances pour presque toutes les impuretés élémentaires.

Il semble que l'ICP-MS soit la technique analytique la plus appropriée pour l'analyse des impuretés élémentaire des produits pharmaceutiques selon les nouvelles exigences soulignées dans le chapitre général USP « 232 ». Compte tenu de ses performances analytiques, elle peut notamment être appliquée pour mesurer de très faibles concentrations d'impuretés élémentaires. L'ICP-MS peut également être couplé à des techniques de séparation (HPLC) permettant la spéciation des impuretés. L'ICP-MS affiche la sensibilité, l'exactitude et la précision élevées requises pour satisfaire aux exigences de qualité édictées par l'ICH, l'USP et la pharmacopée européenne dans l'évaluation des niveaux des impuretés élémentaires dans les produits pharmaceutiques.



Résumés

Résumé :

Titre : Méthodes d'analyse des impuretés élémentaires dans les produits finis, les substances actives et excipients : revue systématique

Mots clés : Analyse – Impureté – Élément – Produit pharmaceutique

Auteur : THIAW Seynabou

La détermination des impuretés élémentaires dans les substances actives, les excipients, les articles de conditionnement et les médicaments est justifiée et nécessaire car fait partie intégrante des paramètres pouvant définir la qualité d'un médicament. La difficulté d'obtenir des résultats fiables et reproductibles à partir des méthodes colorimétriques a conduit au développement de nouvelles procédures suffisamment sélectives et sensibles. Ainsi, les tests chimiques et colorimétriques ont été remplacés par des méthodes instrumentales permettant de mesurer de manière spécifique et quantitative chaque impureté élémentaire.

Une revue systématique de la littérature a été réalisée sur les articles qui ont développé une méthode analytique instrumentale, afin de déterminer les impuretés élémentaires dans les médicaments, publiés entre janvier 2000 et décembre 2019.

74 articles ont été recensés. L'ICP-MS a été retrouvé dans 29 articles, la SAA a été utilisé comme méthode d'analyse dans 23 articles, la SEA a servi d'instrument analytique dans 15 articles, les méthodes électrochimiques et l'UV-Visible ont été employées chacune dans 3 articles, la spectroscopie nucléaire de résonance gamma de même que l'électrophorèse ont été utilisées dans un article. Concernant les limites de détection (LOD), c'est l'ICP-MS qui offre les limites de détection les plus basses. Elle est suivie par la SAA, puis par l'ICP-AES. La digestion acide assistée par micro-ondes est la stratégie de préparation d'échantillons la plus rencontrée dans les articles.

Il semble que l'ICP-MS soit la technique analytique la plus appropriée pour l'analyse des impuretés élémentaire des produits pharmaceutiques selon les nouvelles exigences soulignées dans le chapitre général USP « 232 ». Elle affiche la sensibilité, l'exactitude et la précision élevées requises pour satisfaire aux exigences de qualité édictées par l'ICH, l'USP et la pharmacopée européenne.

Summary:

Title: Methods of analysis of elemental impurities in finished products, active substances and excipients: systematic review

Key words: Analysis - Impurity - Element - Pharmaceutical product

Author: THIAW Seynabou

The determination of elemental impurities in active substances, excipients, packaging articles and drugs is justified and necessary because it is an integral part of the parameters that can define the quality of a drug. The difficulty of obtaining reliable and reproducible results from colorimetric methods has led to the development of new procedures that are sufficiently selective and sensitive. Thus, chemical and colorimetric tests have been replaced by instrumental methods allowing to measure in a specific and quantitative way each elementary impurity.

A systematic review of the literature was carried out on articles which developed an instrumental analytical method, in order to determine elemental impurities in drugs, published between January 2000 and December 2019.

74 articles were identified. ICP-MS was found in 29 articles, SAA was used as an analytical method in 23 articles, SEA was used as an analytical instrument in 15 articles, electrochemical and UV-Visible methods were used each in 3 articles, nuclear gamma resonance spectroscopy as well as electrophoresis were used in one article. Regarding detection limits (LOD), ICP-MS offers the lowest detection limits. It is followed by SAA, then by ICP-AES. Microwave-assisted acid digestion is the most common sample preparation strategy seen in the papers.

ICP-MS appears to be the most suitable analytical technique for the analysis of elemental impurities in pharmaceuticals according to the new requirements outlined in USP General Chapter “232”. It displays the high sensitivity, accuracy and precision required to meet the quality requirements of the ICH, USP and European Pharmacopoeia.

ملخص:

العنوان: طرق تحليل الشوائب الأساسية في المنتجات النهائية والمواد الفعالة والأسوغة: مراجعة منهجية

الكلمات المفتاحية: التحليل - الشوائب - العنصر - المنتج الصيدلاني

المؤلف: THIAW Seynabou

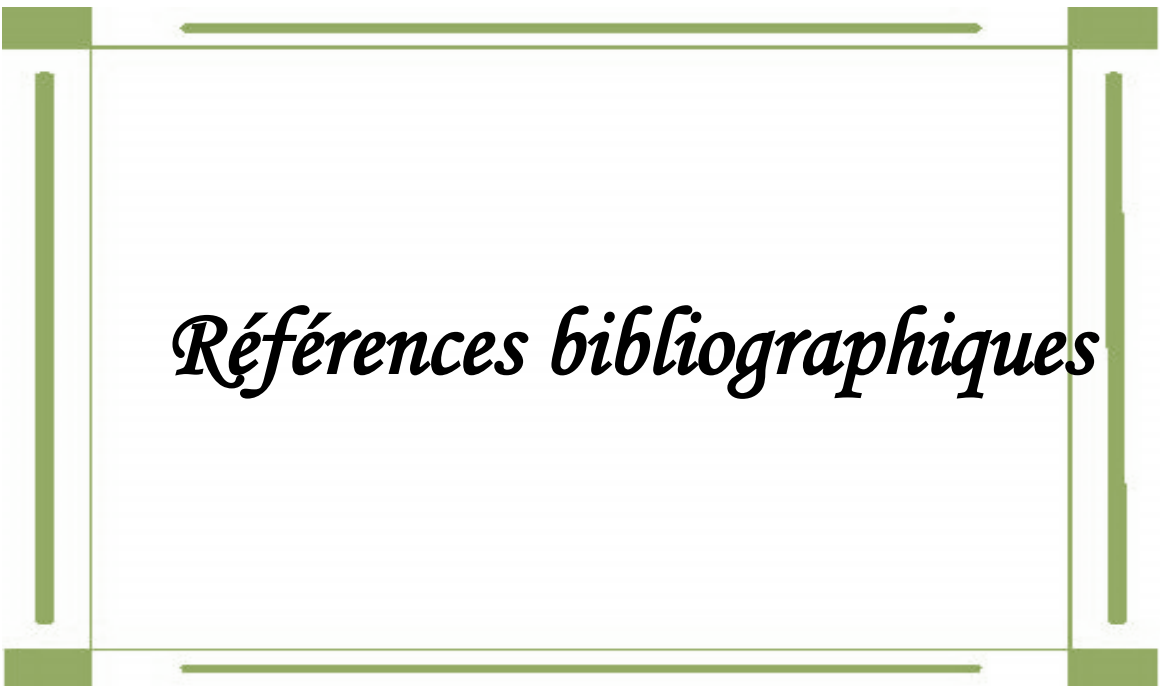
إن تحديد الشوائب الأولية في المواد النشطة، و غير الأساسية، و مواد التغليف و المنتجات الطبية أمر مبرر و ضروري لأنه جزء لا يتجزأ من المعلومات التي يمكن أن تحدد جودة الدواء. وقد أدت صعوبة الحصول على نتائج موثوقة وقابلة للتكرار من خلال طرق قياس الألوان إلى وضع إجراءات جديدة تتسم بقدر كاف من الانتقائية والحساسية. وهكذا، تم استبدال الاختبارات الكيميائية والقياسات اللونية بأساليب مساعدة لقياس كل نقاء عنصري بطريقة محددة وكمية.

وقد أجري استعراض منهجي للأدب على مقالات وضعت طريقة تحليلية مفيدة لتحديد الشوائب الأولية في الأدوية،

نشرت في الفترة 2000 وديسمبر 2019

تم تحديد 74 مقالة. تم العثور على ICP-MS في 29 مقالة، تم استخدام SAA كطريقة تحليلية في 23 مقالة، تم استخدام SEA كأداة تحليلية في 15 مقالة، واستخدمت الطرق الكهروكيميائية والأشعة فوق البنفسجية كل في 3 مقالات، تم استخدام التحليل الطيفي لرنين جاما النووي وكذلك الرحلان الكهربائي في مقال واحد. فيما يتعلق بحدود الكشف (LOD)، يوفر ICP-MS أقل حدود الكشف. يليه SAA، ثم ICP-AES. يعتبر الهضم الحمضي بمساعدة الميكروويف هو أكثر استراتيجيات تحضير العينات شيوعاً في الأوراق.

يبدو أن ICP-MS هو الأسلوب التحليلي الأنسب لتحليل الشوائب الأولية في المستحضرات الصيدلانية وفقاً للمتطلبات الجديدة الموضحة في USP. يعرض الحساسية العالية والدقة المطلوبة لتلبية متطلبات الجودة الخاصة بـ و ودستور الأدوية الأوروبي.



Références bibliographiques

1. Pohl, P., et al., *Impact and practicability of recently introduced requirements on elemental impurities*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2018. **101**: p. 43-55.
2. Nageswara Rao, R. and M.V.N. Kumar Talluri, *An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007. **43**(1): p. 1-13.
3. Görög, S., 4.1. *Classical methods*, in *Progress in Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, S. Görög, Editor. 2000, Elsevier. p. 451-457.
4. Abernethy, D.R., et al., *Metal impurities in food and drugs*. Pharm Res, 2010. **27**(5): p. 750-5.
5. *Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. Working Group views and expert opinions, Lyon, 9-16 February 1993*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 1993. **58**: p. 1-415.
6. *ICH Q3D Elemental Impurities*, in *ICH Quality Guidelines*. p. 233-280.
7. USP. Pharmacopoeia of the United States of America. Boston: Wells and Lilly; 1820.
8. Gilman A, Goodman L. The pharmacological basis of therapeutics. 1st ed. New York: Macmillan; 1941.
9. FDA. Orange book: approved drug products with therapeutic equivalence. 2009. www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/default.cfm
10. Barry, N.P.E. and P.J. Sadler, *Exploration of the medical periodic table: towards new targets*. Chemical Communications, 2013. **49**(45): p. 5106-5131.

11. Crichton, R., *Chapter 22 - Metals in Medicine and Metals as Drugs*, in *Biological Inorganic Chemistry (Third Edition)*, R. Crichton, Editor. 2019, Academic Press. p. 599-623.
12. Kesava Raju, C.S., et al., *Speciation of gadolinium based MRI contrast agents in environmental water samples using hydrophilic interaction chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2010. **25**(1): p. 55-61.
13. McDonald, R.J., et al., *Intracranial Gadolinium Deposition after Contrast-enhanced MR Imaging*. *Radiology*, 2015. **275**(3): p. 772-782.
14. Goncalves, D.A., et al., *Direct determination of chromium in empty medicine capsules by tungsten coil atomic emission spectrometry*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2015. **30**(6): p. 1395-1399.
15. Boetzel, R., et al., *An Elemental Impurities Excipient Database: A Viable Tool for ICH Q3D Drug Product Risk Assessment*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018. **107**(9): p. 2335-2340.
16. Li, G., et al., *Elemental Impurities in Pharmaceutical Excipients*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015. **104**(12): p. 4197-4206.
17. Jenke, D., et al., *A Compilation of Metals and Trace Elements Extracted from Materials Relevant to Pharmaceutical Applications such as Packaging Systems and Devices*. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2013. **67**(4): p. 354.
18. Frey, O.R. and L. Maier, *Polyethylene vials of calcium gluconate reduce aluminum contamination of TPN*. *Ann Pharmacother*, 2000. **34**(6): p. 811-2.
19. Jenke, D.R., J. Story, and R. Lalani, *Extractables/leachables from plastic tubing used in product manufacturing*. *Int J Pharm*, 2006. **315**(1-2): p. 75-92.

20. Van Hoecke, K., C. Catry, and F. Vanhaecke, *Determination of elemental impurities in leachate solutions from syringes using sector field ICP-mass spectrometry*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013. **77**: p. 139-144.
21. Veltz-Balatre, I., S. Biagianti-Risbourg, and G. Vernet, *De la régénération céphalique de l'Oligochète Lumbriculus variegatus Müller à l'étude de la toxicité des métaux lourds*. L'Année Biologique, 2000. **39**(1): p. 39-52.
22. Canfield, R.L., et al., *Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 microg per deciliter*. N Engl J Med, 2003. **348**(16): p. 1517-26.
23. Bakir, F., et al., *Methylmercury poisoning in Iraq*. Science, 1973. **181**(4096): p. 230-41.
24. Marsh, D., *The Toxicity of Methyl Mercury*. 1987, Johns Hopkins University Press Baltimore, MD:.
25. Kollb-Sielecka, M., et al., *The European Medicines Agency review of pitolisant for treatment of narcolepsy: summary of the scientific assessment by the Committee for Medicinal Products for Human Use*. Sleep Medicine, 2017. **33**: p. 125-129.
26. Maithani, M., et al., *Elemental impurities in pharmaceutical products adding fuel to the fire*. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2019. **108**: p. 104435.
27. Lewen, N., *The use of atomic spectroscopy in the pharmaceutical industry for the determination of trace elements in pharmaceuticals*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2011. **55**(4): p. 653-661.
28. Balaram, V., *Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals – Status, challenges and moving frontiers*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016. **80**: p. 83-95.

29. Pinheiro, F.C., A.I. Barros, and J.A. Nóbrega, *Microwave-assisted sample preparation of medicines for determination of elemental impurities in compliance with United States Pharmacopeia: How simple can it be?* *Analytica Chimica Acta*, 2019. **1065**: p. 1-11.
30. Barin, J.S., et al., *Determination of toxic elements in tricyclic active pharmaceutical ingredients by ICP-MS: a critical study of digestion methods.* *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2014. **29**(2): p. 352-358.
31. Barnes, R.M., D.S. Júnior, and F.J. Krug, *Chapter 1 - Introduction to Sample Preparation for Trace Element Determination*, in *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, É.M.d.M. Flores, Editor. 2014, Elsevier: Amsterdam. p. 1-58.
32. Tu, Q., T. Wang, and C.J. Welch, *High-throughput metal screening in pharmaceutical samples by ICP-MS with automated flow injection using a modified HPLC configuration.* *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010. **51**(1): p. 90-95.
33. Fischer, L., et al., *Flow injection combined with ICP-MS for accurate high throughput analysis of elemental impurities in pharmaceutical products according to USP <232>/<233>.* *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014. **95**: p. 121-129.
34. Sims, J., et al., *Automated sample preparation for ICP analysis of active pharmaceutical ingredients and intermediates.* *J Lab Autom*, 2011. **16**(5): p. 377-80.
35. Matusiewicz, H., *Chapter 3 - Systems for Microwave-Assisted Wet Digestion*, in *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, É.M.d.M. Flores, Editor. 2014, Elsevier: Amsterdam. p. 77-98.
36. Wathudura, P.D., et al., *Microwave and open vessel digestion methods for biochar.* *Chemosphere*, 2020. **239**: p. 124788.

37. Kotz, L., et al., *Wet mineralization of organic matrices in glassy carbon vessels in a pressure-bomb system for trace element analysis*. Talanta, 1979. **26**(8): p. 681-691.
38. Bernas, B., *New method for decomposition and comprehensive analysis of silicates by atomic absorption spectrometry*. Analytical Chemistry, 1968. **40**(11): p. 1682-1686.
39. Barin, J.S., et al., *Chapter 5 - Microwave-Induced Combustion*, in *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, É.M.d.M. Flores, Editor. 2014, Elsevier: Amsterdam. p. 143-177.
40. Hoenig, M. and A.-M. de Kersabiec, *Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 1996. **51**(11): p. 1297-1307.
41. Cruz, S.M., et al., *Microwave-induced combustion method for the determination of trace and ultratrace element impurities in graphite samples by ICP-OES and ICP-MS*. Microchemical Journal, 2015. **123**: p. 28-32.
42. Analyse des impuretés élémentaires de l'USP <232>/<233> et de l'ICH-Q3D : solution ICP-MS d'Agilent. Livre blanc publié le 26 mai 2017. Numéro de publication : 5991-8149FR
43. *Appareils équipés d'une torche à plasma à couplage inductif pour l'analyse des liquides*. Biochimie, 1978. **60**(3): p. 343.
44. Pénicaud, B., et al., *Spectrométrie de Masse à Plasma couplé par induction (ICP-MS) Potentialités en analyse et en biologie*. Annales Pharmaceutiques Françaises, 2006. **64**(5): p. 312-327.
45. Huang, J., et al., *The application of inductively coupled plasma mass spectrometry in pharmaceutical and biomedical analysis*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **40**(2): p. 227-234.

46. Pröfrock, D. and A. Prange, *Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry (ICP-MS) for Quantitative Analysis in Environmental and Life Sciences: A Review of Challenges, Solutions, and Trends*. Applied Spectroscopy, 2012. **66**(8): p. 843-868.
47. Lásztity, A., et al., *Development of atomic spectrometric methods for trace metal analysis of pharmaceuticals*. Microchemical Journal, 2002. **73**(1): p. 59-63.
48. Wang, T., et al., *A multi-element ICP-MS survey method as an alternative to the heavy metals limit test for pharmaceutical materials*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2000. **23**(5): p. 867-890.
49. Murty, A.S.R., et al., *Determination of heavy metals in selected drug substances by inductively coupled plasma - Mass spectrometry*. Indian Journal of Chemical Technology, 2005. **12**: p. 229-231.
50. Mermet, J.M., *Use of magnesium as a test element for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry diagnostics*. Analytica Chimica Acta, 1991. **250**: p. 85-94.
51. Lásztity, A., 4.2. *Atomic spectroscopy*, in *Progress in Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2000, Elsevier. p. 458-467.
52. Walsh, A., *The application of atomic absorption spectra to chemical analysis*. Spectrochimica Acta, 1955. **7**: p. 108-117.
53. Koreňovská, M., *Determination of arsenic, antimony, and selenium by FI-HG-AAS in foods consumed in Slovakia*. J Food Nutr Res, 2006. **45**(2): p. 84-88.
54. Smichowski, P. and A. Londonio, *The role of analytical techniques in the determination of metals and metalloids in dietary supplements: A review*. Microchemical Journal, 2018. **136**: p. 113-120.
55. Zeiner, M., et al., *Trace determination of skin-irritating metals in tea tree oil by GFAAS*. Microchemical Journal, 2018. **136**: p. 101-105.

56. Wang, T., S. Walden, and R. Egan, *Development and validation of a general non-digestive method for the determination of palladium in bulk pharmaceutical chemicals and their synthetic intermediates by graphite furnace atomic absorption spectroscopy*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1997. **15**(5): p. 593-599.
57. Yuan, X., R.L. Chapman, and Z. Wu, *Analytical methods for heavy metals in herbal medicines*. Phytochem Anal, 2011. **22**(3): p. 189-98.
58. Górecki, J., et al., *Method development and validation for total mercury determination in coke oven gas combining a trap sampling method with CVAAS detection*. Talanta, 2018. **188**: p. 293-298.
59. Erxleben, H. and J. Ruzicka, *Atomic absorption spectroscopy for mercury, automated by sequential injection and miniaturized in lab-on-valve system*. Analytical chemistry, 2005. **77**(16): p. 5124-5128.
60. Śliwiński, M.G., et al., *Rapid, non-destructive analysis of calcium and strontium in eggshells by WD-XRF*. Chemosphere, 2020. **251**: p. 126253.
61. Gonçalves, L.M.L., I.M. Costa, and J.A.A. Brito, *Assessment of metal elements in final drug products by wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry*. Analytical Methods, 2011. **3**(7): p. 1468-1470.
62. Marguí, E., et al., *Determination of metal residues in active pharmaceutical ingredients according to European current legislation by using X-ray fluorescence spectrometry*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2009. **24**: p. 1253-1257.
63. Wagner, M., et al., *Trace element determination in drugs by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry* | This paper was presented at the 6th Conference on "Total Reflection X-Ray Fluorescence Analysis and Related Methods" (TXRF '96) held in two parts in Eindhoven (The Netherlands) and Dortmund (Germany) in June 1996, and is published in the Special Issue of Spectrochimica Acta, Part B, dedicated to that

Conference.1. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 1997. **52**(7): p. 961-965.

64. Rosolina, S.M., et al., *Direct determination of cadmium and lead in pharmaceutical ingredients using anodic stripping voltammetry in aqueous and DMSO/water solutions*. Analytica Chimica Acta, 2015. **893**: p. 25-33.
65. Görög, S., 4.3. *Other methods*, in *Progress in Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, S. Görög, Editor. 2000, Elsevier. p. 468-471.
66. Alula, M.T., A.-M.I. Mohamed, and A.A. Bekhit, *Simultaneous spectrophotometric determination of iron (II) and copper (II) in tablets by chemometric methods*. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010. **34**(3).
67. Yadav, D.K., et al., *Study of New Selective Reagent Acetophenone 2j⁻, 4j⁻-Dihydroxy Semicarbazone for Extractive Spectrophotometric Determination of Vanadium*. World Journal of Analytical Chemistry, 2014. **2**(1): p. 10-14.
68. Mohit, O.K. and V. Oree. *Assessing the energy savings potential in public buildings through retrofit measures in tropical climates — A case study in Mauritius*. in *2013 Africon*. 2013.
69. Gotti, R., et al., *Capillary electrophoresis method for speciation of iron (II) and iron (III) in pharmaceuticals by dual precapillary complexation*. Electrophoresis, 2015. **36**(21-22): p. 2820-2827.
70. Swartz, M.E. and M. Merion, *On-line sample preconcentration on a packed-inlet capillary for improving the sensitivity of capillary electrophoretic analysis of pharmaceuticals*. Journal of Chromatography A, 1993. **632**(1): p. 209-213.
71. Kamath, S.U., et al., *Variations in physicochemical properties of a traditional mercury-based nanopowder formulation: need for standard manufacturing practices*. Indian journal of pharmaceutical sciences, 2014. **76**(6): p. 495-503.

72. Hernández, A., *Determination of elemental levels in radiopharmaceuticals by instrumental neutron activation analysis*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2001. **249**.
73. Cecil, T.L., *Chapter 8 - Validation of procedures for elemental impurities*, in *Specification of Drug Substances and Products*, C.M. Riley, T.W. Rosanske, and S.R.R. Riley, Editors. 2014, Elsevier: Oxford. p. 155-169.
74. Müller, J., et al., *Validation of Raman spectroscopic procedures in agreement with ICH guideline Q2 with considering the transfer to real time monitoring of an active coating process*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010. **53**(4): p. 884-894.
75. Alhakmani, F., S. Kumar, and S.A. Khan, *Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of Moringa oleifera*. Asian Pac J Trop Biomed, 2013. **3**(8): p. 623-7; discussion 626-7.
76. Mattiazzi, P., et al., *High-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for screening elemental impurities in drugs to adhere to the new international guidelines*. Talanta, 2019. **197**: p. 20-27.
77. French, H.E., M.J. Went, and S.J. Gibson, *Graphite furnace atomic absorption elemental analysis of ecstasy tablets*. Forensic Science International, 2013. **231**(1): p. 88-91.
78. Mikušová, P.P.V., et al., *Radionuclide X-ray fluorescence analysis of selected elements in drug samples with 8-hydroxyquinoline preconcentration*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2013. **299**.
79. Antosz, F.J., et al., *The use of total reflectance X-ray fluorescence (TXRF) for the determination of metals in the pharmaceutical industry*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2012. **62**: p. 17-22.

80. Araujo-Barbosa, U., et al., *Simultaneous determination and speciation analysis of arsenic and chromium in iron supplements used for iron-deficiency anemia treatment by HPLC-ICP-MS*. Talanta, 2017. **170**: p. 523-529.
81. da Silva, C.S., et al., *Determination of As, Cd, Hg and Pb in continuous use drugs and excipients by plasma-based techniques in compliance with the United States Pharmacopeia requirements*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2017. **138**: p. 14-17.
82. Wollein, U., et al., *Potential metal impurities in active pharmaceutical substances and finished medicinal products – A market surveillance study*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015. **77**: p. 100-105.
83. Menoutis, J., A. Parisi, and N. Verma, *Study of the use of axial viewed inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with ultrasonic nebulization for the determination of select elemental impurities in oral drug products*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018. **152**: p. 12-16.
84. Rudovica, V., A. Viksna, and A. Actins, *Application of LA-ICP-MS as a rapid tool for analysis of elemental impurities in active pharmaceutical ingredients*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014. **91**: p. 119-122.
85. Shaw, B.J., et al., *Applicability of total reflection X-ray fluorescence (TXRF) as a screening platform for pharmaceutical inorganic impurity analysis*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2012. **63**: p. 151-159.
86. Chahrour, O., et al., *Development and validation of an ICP-MS method for the determination of elemental impurities in TP-6076 active pharmaceutical ingredient (API) according to USP <232> / <233> .* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017. **145**: p. 84-90.
87. Figueiredo, A., et al., *Feasibility of wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry for the determination of metal impurities in pharmaceutical products*

and dietary supplements in view of regulatory guidelines. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2016. **122**: p. 52-58.

88. Muller, A.L.H., et al., *Study and determination of elemental impurities by ICP-MS in active pharmaceutical ingredients using single reaction chamber digestion in compliance with USP requirements*. *Talanta*, 2015. **136**: p. 161-169.
89. Pinheiro, F.C., A.I. Barros, and J.A. Nóbrega, *Evaluation of dilute-and-shoot procedure for determination of inorganic impurities in liquid pharmaceutical samples by ICP OES*. *Microchemical Journal*, 2019. **146**: p. 948-956.
90. Støveng, C., et al., *Development and validation of an ICP-OES method for quantitation of elemental impurities in tablets according to coming US pharmacopeia chapters*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013. **84**: p. 209-214.
91. Pluháček, T., M. Ručka, and V. Maier, *A direct LA-ICP-MS screening of elemental impurities in pharmaceutical products in compliance with USP and ICH-Q3D*. *Analytica Chimica Acta*, 2019. **1078**: p. 1-7.
92. Aleluia, A.C.M., et al., *Sequential determination of cadmium and lead in organic pharmaceutical formulations using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry*. *Microchemical Journal*, 2017. **130**: p. 157-161.
93. Barrera, E.G., et al., *Alternative method for chromium determination in pharmaceutical drugs by HR-CS GF AAS and direct analysis of solid samples*. *Microchemical Journal*, 2017. **132**: p. 365-370.
94. Jurowski, K., et al., *Toxicological analysis of Pb and Cd by ET AAS in local anaesthetics for teething (teething gels) based on herbs available in Polish pharmacies*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2019. **52**: p. 18-21.

95. Mornar, A., et al., *Evaluation of alcohol content and metal impurities in liquid dietary supplements by sHSS-GC-FID and GFAAS techniques*. Food Chemistry, 2016. **211**: p. 285-293.
96. Pierini, G.D., et al., *A pencil-lead bismuth film electrode and chemometric tools for simultaneous determination of heavy metals in propolis samples*. Microchemical Journal, 2016. **125**: p. 266-272.
97. Schlegl, R., et al., *Influence of elemental impurities in aluminum hydroxide adjuvant on the stability of inactivated Japanese Encephalitis vaccine, IXIARO®*. Vaccine, 2015. **33**(44): p. 5989-5996.
98. Adolfo, F.R., et al., *Simultaneous determination of cobalt and nickel in vitamin B12 samples using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry*. Talanta, 2016. **147**: p. 241-245.
99. Bolzan, R.C., et al., *Chromium determination in pharmaceutical grade barium sulfate by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction*. Talanta, 2007. **74**(1): p. 119-124.
100. Lewen, N., et al., *A rapid ICP-MS screen for heavy metals in pharmaceutical compounds*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2004. **35**(4): p. 739-752.
101. Raghuram, P., I.V. Soma Raju, and J. Sriramulu, *Heavy metals testing in active pharmaceutical ingredients: an alternate approach*. Pharmazie, 2010. **65**(1): p. 15-8.
102. Yu, J., et al., *Determination of calcium and zinc in gluconates oral solution and blood samples by liquid cathode glow discharge-atomic emission spectrometry*. Talanta, 2017. **175**: p. 150-157.
103. Zachariadis, G.A. and C.E. Michos, *Development of a slurry introduction method for multi-element analysis of antibiotics by inductively coupled plasma atomic emission*

spectrometry using various types of spray chamber and nebulizer configurations. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007. **43**(3): p. 951-958.

104. Al-Ammar, A. and J. Northington, *Accuracy improvement in the determination of palladium in pharmaceuticals by eliminating volatility error when using ICP-MS coupled with direct introduction of sample dissolved in organic solvents.* J. Anal. At. Spectrom., 2011. **26**: p. 1531-1533.
105. Antes, F.G., et al., *Development of multi-elemental method for quality control of parenteral component solutions using ICP-MS.* Microchemical Journal, 2011. **98**(1): p. 144-149.
106. Gonzalez, M.H., et al., *Determination of Elemental Impurities in Acyclovir Ointment and Raw Materials Using Microwave Acid Digestion (MW-AD) and ICP-MS.* Journal of the Brazilian Chemical Society, 2017. **28**: p. 98-105.
107. Jia, X., et al., *Determination of ruthenium in pharmaceutical compounds by graphite furnace atomic absorption spectroscopy.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **41**(1): p. 43-47.
108. Margu , E., I. Queralt, and M. Hidalgo, *Determination of platinum group metal catalyst residues in active pharmaceutical ingredients by means of total reflection X-ray spectrometry.* Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2013. **86**: p. 50-54.
109. Simitchiev, K., et al., *Microwave-assisted cloud point extraction of Rh, Pd and Pt with 2-mercaptobenzothiazole as preconcentration procedure prior to ICP-MS analysis of pharmaceutical products.* Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2008. **23**(5): p. 717-726.
110. So tyk, K., et al., *Determination of chromium and selected elements in multimineral and multivitamin preparations and in pharmaceutical raw material.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003. **32**(3): p. 425-432.

111. Venzago, C., et al., *Pharmacopeial requirements for elemental impurities: a novel approach to the trace determination of osmium by oxidative pressure vessel sample digestion and measurement using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after complexation and stabilisation*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013. **28**(7): p. 1125-1129.
112. Zachariadis, G.A. and E. Sahanidou, *Analytical performance of a fast multi-element method for titanium and trace elements determination in cosmetics and pharmaceuticals by ICP-AES*. Central European Journal of Chemistry, 2011. **9**(2): p. 213-217.
113. Bolzan, R., et al., *Arsenic Determination in Pharmaceutical Grade Barium Sulfate using Direct Solid Sampling Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*. Article J. Braz. Chem. Soc, 2010. **21**: p. 686-693.
114. Flores, É.M.d.M., et al., *Determination of total arsenic by batch hydride generation atomic absorption spectrometry in injectable drugs containing high levels of Sb(V) as N-methylglucamine antimonate*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2002. **57**(12): p. 2095-2102.
115. Kaczala, S., et al., *Element Determination in Pharmaceuticals Using Direct Solid Analysis-Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2015. **26**.
116. Marguá, E., et al., *Method for the Determination of Pd-Catalyst Residues in Active Pharmaceutical Ingredients by Means of High-Energy Polarized-Beam Energy Dispersive X-Ray Fluorescence*. Analytical Chemistry, 2009. **81**(4): p. 1404-1410.
117. NicDaéid, N., S. Jayaram, and W.J. Kerr, *Elemental profiling using ICPMS of methylamphetamine hydrochloride prepared from proprietary medication using the Moscow and hypophosphorous synthesis*. Science & Justice, 2013. **53**(3): p. 278-285.

118. Resano, M., et al., *Determination of palladium, platinum and rhodium in used automobile catalysts and active pharmaceutical ingredients using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2015. **105**: p. 38-46.
119. Cabral, L.M., et al., *Speciation of antimony (III) and antimony (V) using hydride generation for meglumine antimoniate pharmaceutical formulations quality control*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2008. **103**: p. 130-137.
120. Dash, K., et al., *Ultraviolet photolysis assisted mineralization and determination of trace levels of Cr, Cd, Cu, Sn, and Pb in isosulfan blue by ICP-MS*. Microchemical Journal, 2011. **98**(2): p. 312-316.
121. de Figueiredo, E.C., P.O. Luccas, and M.A.Z. Arruda, *Determination of Sb(III) and Total Sb in Antileishmanial Drugs by Spectrophotometric Flow- Injection Hydride Generation*. Analytical Letters, 2006. **39**(3): p. 543-554.
122. de Moraes Flores, É.M., et al., *Determination of antimony(iii) and total antimony by hydride generation atomic absorption spectrometry in samples of injectable drugs used for leishmaniasis treatment*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2002. **17**(8): p. 819-823.
123. Gallignani, M., M.d.R. Brunetto, and F. Ovalles, *Flow analysis-hydride generation-gas phase derivative molecular absorption spectrophotometric determination of antimony in antileishmanial drugs*. Química Nova, 2009. **32**: p. 337-342.
124. Knam, K., et al., *Microwave-Induced Combustion for ICP-MS: A Generic Approach to Trace Elemental Analyses of Pharmaceutical Products*. Spectroscopy, 2011. **26**: p. 2.

125. Moraes, D.P., et al., *Selective generation of substituted arsines-cryotrapping-atomic absorption spectrometry for arsenic speciation analysis in N-methylglucamine antimonate*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2012. **27**(10): p. 1734-1742.
126. Althoff, A.G., et al., *Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES) and Standard Dilution Analysis to Determine Trace Elements in Pharmaceutical Samples*. Applied Spectroscopy, 2017. **71**(12): p. 2692-2698.
127. Bol'shov, M.A., et al., *[The modern approaches to the determination of the content of elemental impurities in the pharmaceutical substances with the use of inductively-coupled plasma mass-spectrometry]*. Sud Med Ekspert, 2015. **58**(6): p. 31-33.
128. de Paula, C.E.R., et al., *Development of a focused ultrasound-assisted extraction method for the determination of trace concentrations of Cr and Mn in pharmaceutical formulations by ETAAS*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013. **74**: p. 284-290.
129. Séby, F., et al., *Speciation of antimony in injectable drugs used for leishmaniasis treatment (Glucantime®) by HPLC-ICP-MS and DPP*. Analytical and bioanalytical chemistry, 2012. **404**.
130. Sauer, B., et al., *Application of X-ray fluorescence spectrometry for screening pharmaceutical products for Elemental Impurities according to ICH guideline Q3D*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2020. **179**: p. 113005.
131. Gioia, M.G., A.M. Di Pietra, and R. Gatti, *Validation of a spectrophotometric method for the determination of iron (III) impurities in dosage forms*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002. **29**(6): p. 1159-1164.
132. Niemelä, M., et al., *Development of analytical methods for the determination of sub-ppm concentrations of palladium and iron in methotrexate*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2004. **35**(3): p. 433-439.

- 133.Oshtrakh, M.I., O.B. Milder, and V.A. Semionkin, *Determination of the iron state in ferrous iron containing vitamins and dietary supplements: Application of Mössbauer spectroscopy*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **40**(5): p. 1281-1287.
- 134.Tu, Q., T. Wang, and V. Antonucci, *High-efficiency sample preparation with dimethylformamide for multi-element determination in pharmaceutical materials by ICP-AES*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010. **52**(2): p. 311-315.
- 135.Tumir, H., et al., *Preliminary investigation of metal and metalloid contamination of homeopathic products marketed in Croatia*. Homeopathy, 2010. **99**(3): p. 183-188.
- 136.Vuković, J., et al., *Simultaneous determination of traces of heavy metals by solid-phase spectrophotometry*. Talanta, 2007. **71**(5): p. 2085-2091.
- 137.Rebouças, J.S., et al., *Determination of residual manganese in Mn porphyrin-based superoxide dismutase (SOD) and peroxynitrite reductase mimics*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2009. **50**(5): p. 1088-1091.
- 138.Palchetti, I., et al., *Disposable electrochemical sensor for rapid determination of heavy metals in herbal drugs*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003. **32**(2): p. 251-256.
- 139.Barin, J.S., et al., *Determination of elemental impurities in pharmaceutical products and related matrices by ICP-based methods: a review*. Anal Bioanal Chem, 2016. **408**(17): p. 4547-66.
- 140.EMA/CHMP/SWP/4446/2000 guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents. 2008.

141. United States Pharmacopeia. Ad Hoc Advisory Panel on Inorganic Impurities and Heavy Metals and USP Staff - stimuli to the revision process: general chapter on inorganic impurities: heavy metals. Pharmacop Forum. 2008;34(5).
142. USP <232>/<233> and IHC Q3D Elemental Impurities Analysis: Agilent's ICP-OES Solution, Agilent Technologies, 2017. White Paper 5991e8150EN
143. Understanding New USP Chapter <232> for Trace Elemental Contaminants in Dietary Supplements and Nutraceutical Products, Thermo Scientific, 2017. White Paper WP71654-EN 0117S.
144. A. Liba, E. McCurdy, R. Ashdown, Proposed New ICH and USP Methods for Elemental Impurities: the Application of ICP-MS and ICP-OES for Pharmaceutical Analysis, Agilent Technologies, 2014. White Paper 5990e9382EN.
145. Jurowski, K., et al., *The toxicological analysis of Cu, Mn and Zn as elemental impurities in pharmaceutical herbal products for teething available in pharmacies in Poland*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2019. 53: p. 109-112.
146. Matusiewicz, H., *Wet digestion methods*, in *Comprehensive Analytical Chemistry*. 2003, Elsevier. p. 193-233.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.



المملكة المغربية
بالرباط جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
الرباط



رقم الأطروحة : 064

سنة: 2020

طرق تحليل الشوائب الأساسية في المنتجات النهائية والمواد الفعالة والأسوغة: مراجعة منهجية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: / / 2020

من طرف:

السيد طهلاو سينابو
بـ يـ كـ ين في 1992 ديـ سمـ بر 26

لـ نـ يـ ل شـ هـ اـ دـ ة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية: التحليل - الشوائب - العنصر - المنتج الصيدلاني

أعضاء لجنة التحكيم :

رئيسة

مشرف

عضو

عضو

السيدة مينة أيت القاضي

أستاذة في علم السموم

السيد مصطفى بوعطية

أستاذ في الكيمياء التحليلية و البروماتولوجيا

السيد رشيد النجاري

أستاذ في علم القاقير

السيد أمين الشخي