

ANALYSE DES SOLVANTS RÉSIDUELS DANS LES PRODUITS PHARMACEUTIQUES

Ounnoughi Chahrazed ; Lalaouna Abd El Djilil

Laboratoire de chimie analytique, département de pharmacie, faculté de médecine, Université Saleh Boubnider de Constantine

Introduction

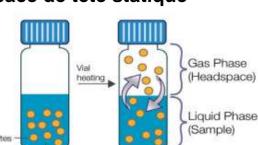
Si le but d'un médicament est de guérir ou prévenir une pathologie, il peut présenter intrinsèquement une certaine toxicité. Tout doit se faire pour éviter d'introduire d'autres sources de toxicité comme celles qui pourraient provenir des impuretés telles que les solvants résiduels (RS) utilisés au cours de la synthèse ou la formulation.

La pharmacopée européenne décrit une méthode générique basée sur la chromatographie en phase gazeuse à espace de tête statique pour leur analyse et identification. Bien que cette méthode soit avérée appropriée pour la majorité des RS, elle peut manquer de sensibilité pour certains solvants. Afin d'augmenter l'efficacité et la sensibilité de la méthode et réduire le temps de séparation, plusieurs alternatives ont été proposées dans des études récentes.

Dans ce travail nous présentons la méthode décrite par la pharmacopée européenne, ainsi que d'autres évolutions majeures dans l'analyse des RS, afin que les utilisateurs puissent appliquer ces nouvelles méthodologies dans leurs laboratoires respectifs.

IV. Méthode de référence (Ph Eur 9.0)

Tableau I: Méthodes décrites par la Ph.Eur 9^{ème} édition [1] pour la recherche des SR

	Système A	Système B																												
Echantillon	0,2g de l'échantillon dans: - 20 ml de DMF (substances non hydrosolubles) - 20 ml de DMI pour le contrôle de DMF et DMA	- 20 ml d'eau (substances hydrosolubles)																												
Injecteur	<p>Espace de tête statique</p>  <p>CONDITIONS DE L'ESPACE DE TETE STATIQUE</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Conditions opératoire</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>T° d'équilibre (°C)</td> <td>80</td> <td>105</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>Tems d'équilibrage (min)</td> <td>60</td> <td>45</td> <td>45</td> </tr> <tr> <td>T° de transfert (°C)</td> <td>85</td> <td>110</td> <td>105</td> </tr> <tr> <td>Gaz vecteur</td> <td colspan="3">N₂ ou He sous pression appropriée</td> </tr> <tr> <td>Durée de pressurisation (s)</td> <td colspan="3">30</td> </tr> <tr> <td>Volume injecté (ml)</td> <td colspan="3">1</td> </tr> </tbody> </table>		Conditions opératoire	1	2	3	T° d'équilibre (°C)	80	105	80	Tems d'équilibrage (min)	60	45	45	T° de transfert (°C)	85	110	105	Gaz vecteur	N ₂ ou He sous pression appropriée			Durée de pressurisation (s)	30			Volume injecté (ml)	1		
Conditions opératoire	1	2	3																											
T° d'équilibre (°C)	80	105	80																											
Tems d'équilibrage (min)	60	45	45																											
T° de transfert (°C)	85	110	105																											
Gaz vecteur	N ₂ ou He sous pression appropriée																													
Durée de pressurisation (s)	30																													
Volume injecté (ml)	1																													
Colonne	30 m x 0,32 mm (0,53) x 1,8 µm (3 µm) recouverte d'un mélange réticulé de 6 % de polycyanopropylphénylsiloxane et de 94 % de polydiméthylsiloxane	30 m x 0,32 mm (0,53mm) x 0,25 µm, recouverte d'un film de Macroglol 20 000																												
Gaz vecteur	N ₂ ou He vitesse :35 cm/s ; rapport de division de 1:5																													
Détecteur	FID; SM ; ECD est utilisé pour les solvants chlorés de « classe1 »																													
Température (°C)	<p>Colonne</p>  <p>Chambre à injection: 140°C</p> <p>Détecteur: 250°C</p>																													

DMF: N,N-diméthylformamide ; **DMA**: N,N-diméthylacétamide ; **DMI**: 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone
FID détecteur à ionisation de flamme ; **SM** spectromètre de masse ; **ECD** détecteur à capture d'électrons

II. La paraffine liquide comme milieu de dilution

Dans le cadre des travaux de **Ward d'Autry et al [2]**, la paraffine liquide a été introduite comme un nouveau milieu de dilution pour l'analyse des RS à point d'ébullition élevé à savoir le DMF, DMA, DMSO et BA par GC-HS.

- Lorsque l'eau a été utilisée comme milieu de dilution seul le BA a été clairement détecté (A), dans le cas de DMF comme milieu de dilution d'autres analytes que le DMF n'ont pas pu être détectés (B) et lors de l'ajout de DMI comme milieu de dilution, seul le DMSO a pu être détecté(C). Cela permet de conclure que la méthode de la Ph.Eur n'offrait pas une sensibilité suffisante pour la détection de ces 4 analytes à 1/20 de leur concentrations limites officielles.
- Avec la paraffine liquide (D), tous les pics d'analytes ont été clairement détectés et la sensibilité a été remarquablement améliorée. La méthode optimisée a montrée des **LOD < 1 µg / vial** et des **LOQ < 2 µg/ vial** pour tous les composés testés et par conséquent, ces solvants pouvait être quantifier au dessous de leurs concentrations limites respectives.

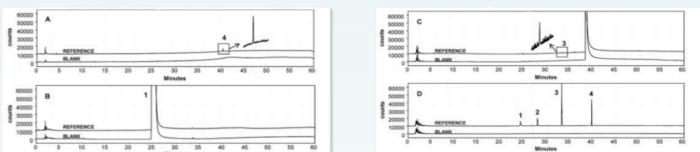


Fig 1. Superposition de chromatogrammes de solutions à blanc et de référence, dans 4 milieux de dilution différents

La paraffine liquide de haute pureté est facile à obtenir et relativement de bon marché, elle convient pour l'analyse de routine de type d'échantillons particuliers par GC-HS.

DMSO: diméthylsulfoxyde ; **BA**: alcool benzyle

III. Les liquides ioniques (ILs) comme milieu de dilution

Cette étude réalisée par **Omprakash Nacham et al [3]** démontre la possibilité de déterminer les solvants résiduels dans les produits pharmaceutiques avec un liquide ionique [BMIM][NTf₂] utilisé comme diluant.

- En raison de la pression de vapeur négligeable et de la grande stabilité thermique, à T° d'incubation élevée, [BMIM][NTf₂] n'a produit aucun pic de solvant et a réduit les niveaux de bruit par rapport aux diluants organiques conventionnels comme le NMP
- Les intensités de signal de la plupart des RS testés étaient significativement plus élevées dans [BMIM][NTf₂] que dans le NMP.

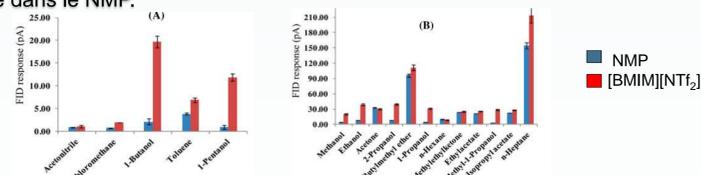


Fig 2. Comparaison de la réponse des RS dans NMP et [BMIM][NTf₂]

La méthode basée sur l'IL offre une meilleure sensibilité et une excellente précision avec des LOD ≤ 20µg/g, et des CV% de l'ordre de 1% comparée au milieu conventionnel qui donne des LOD de l'ordre de 500µg/g et des CV% entre 5% et 8% pour la majorité des solvants testés.

[BMIM][NTf₂]: 1-butyl-3-méthylimidazolium bis(trifluorométhyl)sulfonylimide ; **NMP**: N-méthylpyrrolidone

Références bibliographiques :

- Conseil de l'Europe. Pharmacopée européenne : publiée selon la Convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne. 2016.
- D'Autry W, Zheng C, Bugalama J, Wolfs K, Hoogmartens J, Adams E, et al. Liquid paraffin as new dilution medium for the analysis of high boiling point residual solvents with static headspace-gas chromatography. J Pharm Biomed Anal. juill 2011;55(5):1017-23.
- Nacham O, Ho TD, Anderson JL, Webster GK. Use of ionic liquids as headspace gas chromatography diluents for the analysis of residual solvents in pharmaceuticals. J Pharm Biomed Anal. oct 2017;145:879-86.
- Heydari R. Residual Solvents Determination in Pharmaceuticals by Static Headspace-Gas Chromatography and Headspace Liquid-Phase Microextraction Gas Chromatography. Anal Lett. sept 2012;45(13):1875-84.

IV. HS-LPME GC

Une méthode de microextraction en phase liquide dans l'espace de tête (HS-LPME) a été développée et optimisée par **Rouhollah Heydari [4]** pour la détermination des RS.

- Une microgoutte de n-hexanol a été suspendue à l'extrémité d'une microseringue et exposée à l'espace de tête de l'échantillon.
- Les paramètres affectant l'efficacité de l'extraction (solvant d'extraction, T°, force ionique, vitesse d'agitation, temps d'extraction, temps d'équilibre, volume de chute et volume d'échantillon) ont été étudiés et optimisés.

Tableau II. analyse des RS par HS-LPME et HS statique

Drug substance	Solvent found	Concentration (µg mL ⁻¹)	
		HS-LPME	Static HS
Sertraline HCl	toluene	16.5	18.2
Tramadol HCl	isopropanol	100.2	98.6
Gabapentin	toluene	18.6	20.5
	ethanol	331.1	338.4
Lamivudine	toluene	22.3	19.6
	ethanol	110.0	125.5
Zidovudine	toluene	19.2	23.3
	ethyl acetate	58.6	64.2

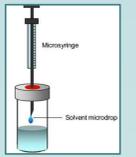


Fig 3. HS-LPME

Les deux méthodes (celle de la Ph Eur et la LPME-GC) ont montré un accord relativement bon entre les résultats. Ce qui permet de conclure que la HS-LPME-GC peut être utilisée pour l'analyse de routine des substances médicamenteuses dans les laboratoires de contrôle de qualité.

V. HS-SPME GC

La microextraction en phase solide (SPME) avec sa propriété de concentrer les analytes, permet d'atteindre des limites de détection faibles.

- Dans le travail réalisé par **Thiago Ilipronti et al [5]**, une fibre de silice fondue revêtue de microparticule de ZnO en réseau a été appliquée avec succès comme sorbant pour l'analyse de RS polaires.
- Le ZnO est un matériau adsorbant avec une haute capacité de sorption et une stabilité thermique nécessaire pour l'étape de désorption.

La méthode mise au point a été appliquée à l'analyse des RS polaires des échantillons médicamenteux, avec des LOD < 0,4 µg/ml. La précision pour toutes les concentrations évaluées était de 7,1 %. La comparaison entre la méthode développée et la méthode conventionnelle montre des erreurs < 4 %.

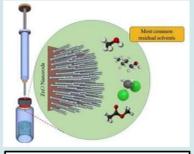


Fig 4. HS-SPME

VI. Analyse à grande vitesse des RS par CPG à modulation de flux

La séparation par CPG à haute vitesse des RS à l'aide d'une technique de modulation de flux est décrite par **Rebecca E. Wittrig et al [6]**.

- Cette technique est réalisée en programmant la pression du gaz vecteur au point de jonction d'un ensemble de colonnes capillaires de polyéthylène glycol et de trifluoropropylméthyl/ diméthylpolysiloxane couplées en série. Cet ensemble de colonnes fonctionne en mode stop-flow pour améliorer la séparation.
- Une vanne entre le point de jonction et une source de gaz vecteur à une pression supérieure à la pression d'entrée du GC est ouverte à des intervalles de 2 à 8 s, ce qui arrête ou inverse légèrement le débit de gaz vecteur dans la première colonne.
- Les impulsions d'arrêt de flux sont utilisées pour augmenter la séparation des analytes cibles qui se chevauchent dans le chromatogramme de l'ensemble au fonctionnement en flux conventionnel.

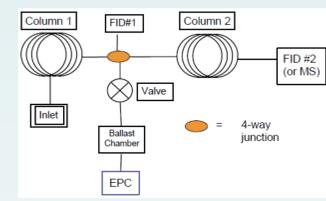


Fig 5. Schéma d'un système GC stop-flow

Les 36 RS analysés à l'aide de cette technique sont résolus en 12 minutes dans une seule analyse chromatographique.

VII. Quantification simultanée de l'eau et des RS par GC-TCD

Dans le cadre des travaux de **Jacob Kay et al [7]**, un détecteur à conductivité thermique (TCD) a été utilisé à la place du FID pour la quantification simultanée de l'eau et de 27 RS.

- Afin de comparer directement la sensibilité du FID et de la TCD, le flux post-colonne a été réparti uniformément entre les deux détecteurs à l'aide de colonnes capillaires ouvertes en Y

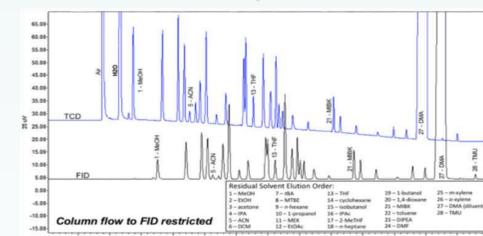


Fig 6. Superposition de signaux TCD et FID d'un mélange de 27 solvants

- Les résultats pour les RS et l'eau obtenus par cette technique se sont révélés comparables à ceux du GC-FID et du **Karl Fisher (KF)**, respectivement.
- HS- GC-TCD réduit le recours aux tests de **KF** et des réactifs coûteux associés, et aide à conserver des échantillons qui sont souvent limités dans les premiers stades de développement.

Conclusion

La HS-CPG est la méthode la plus fréquente. Plusieurs alternatives intéressantes ont été mises au point au cours des dernières années pour améliorer l'analyse et augmenter sa sensibilité.

L'une des tendances les plus importantes dans le développement de méthodes et d'outils à faible coût est l'introduction de différents types de capteurs et de techniques, telles que les techniques IMS, la technologie du nez électronique et les capteurs chimiques/physiques basés sur le NIR. Ils permettent de surveiller en ligne les impuretés volatiles pendant le processus de fabrication, réduisant ainsi considérablement le temps d'analyse. En outre, ils sont automatisés, efficaces, rentables et ne nécessitent pas de grands volumes d'échantillons pour l'analyse. D'autres études et développements sont attendus dans ce domaine.

- Ilipronti T, de Campos SD, Cabral Muller C, de Campos EA. SPME fiber coated by arrayed ZNRs for sampling and concentration of polar residual solvents for further analysis using GC FID. J Pharm Biomed Anal. sept 2019;174:644-9.
- Wittrig RE, Dorman FL, English CM, Sacks RD. High-speed analysis of residual solvents by flow-modulation gas chromatography. J Chromatogr A. févr 2004;1027(1-2):75-82.
- Kay J, Thomas R, Gruenhagen J, Venkatramani CJ. Simultaneous quantitation of water and residual solvents in pharmaceuticals by rapid headspace gas chromatography with thermal conductivity detection (GC-TCD). J Pharm Biomed Anal. févr 2021;194:113796.