

Guide technique pour L'ELABORATION DES MONOGRAPHIES



Pharmacopée Européenne

EDQM
8^e Edition
2022

Version française

2022

La reproduction de ce fichier à des fins commerciales ou sa publication sur un site internet payant est strictement interdite.

En cas de réutilisation de ce fichier, totale ou partielle, il est demandé d'indiquer clairement la source et d'informer l'EDQM (publications.info@edqm.eu).

Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé (EDQM)

Conseil de l'Europe

7, allée Kastner

CS 30026

F-67081 STRASBOURG

FRANCE

Image de couverture :

© EDQM – Conseil de l'Europe

Directeur de la publication : **Dr P. Doerr**

Mise en page : **EDQM**

www.edqm.eu

© Conseil de l'Europe, 2022

Guide technique pour
L'ÉLABORATION DES MONOGRAPHIES

Pharmacopée Européenne

8^e Edition
2022

GUIDE TECHNIQUE POUR L'ÉLABORATION DES MONOGRAPHIES

8^e Édition – 2022

TABLE DES MATIÈRES

I.	INTRODUCTION	1
I.1	OBJECTIFS DU GUIDE	1
I.2	PROCÉDURES ANALYTIQUES	1
I.3	ÉQUIPEMENT	2
I.4	PRISES D'ESSAI	2
I.5	RÉACTIFS	4
I.6	DÉNOMINATION COMMERCIALE	5
I.7	ÉTALONS DE RÉFÉRENCE	5
II.	MONOGRAPHIES DE SUBSTANCES POUR USAGE PHARMACEUTIQUE	5
II.1	TITRE	6
II.2	FORMULES, MASSES ET NUMÉROS CAS	7
II.3	DÉFINITION	8
II.3.1.	<i>Associations</i>	8
II.3.2.	<i>Teneur</i>	8
II.4	PRODUCTION	9
II.5	CARACTÈRES	9
II.5.1.	<i>Aspect</i>	10
II.5.2.	<i>Saveur</i>	10
II.5.3.	<i>Odeur</i>	10
II.5.4.	<i>Solubilité</i>	10
II.5.5.	<i>Instabilité</i>	10
II.5.6.	<i>Hygroscopicité</i>	11
II.5.7.	<i>Propriétés à l'état solide</i>	11
II.5.8.	<i>Autres caractéristiques</i>	11
II.5.9.	<i>Comportement en solution</i>	12
II.6	IDENTIFICATION	12
II.6.1.	<i>Généralités</i>	12
II.6.2.	<i>Première et seconde identification</i>	13
II.6.3.	<i>Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge</i>	14
II.6.4.	<i>Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible</i>	15
II.6.5.	<i>Point de fusion, point de solidification et point d'ébullition</i>	16
II.6.6.	<i>Identification des substances ayant un ou plusieurs stéréocentres</i>	17
II.6.7.	<i>Chromatographie sur couche mince</i>	17
II.6.8.	<i>Chromatographie en phase gazeuse et chromatographie liquide</i>	18
II.6.9.	<i>Réactions chimiques</i>	18
II.7	ESSAI	18
II.7.1.	<i>Généralités</i>	18
II.7.2.	<i>Titre des essais</i>	19
II.7.3.	<i>Solution S</i>	19
II.7.4.	<i>Aspect de la solution</i>	21

II.7.4.1. Limpidité et degré d'opalescence (2.2.1)	21
II.7.4.2. Degré de coloration des liquides (2.2.2)	21
II.7.5. <i>pH et Acidité ou alcalinité</i>	22
II.7.6. <i>Pouvoir rotatoire (2.2.7)</i>	24
II.7.7. <i>Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25)</i>	25
II.7.8. <i>Substances apparentées</i>	25
II.7.8.1. Chromatographie sur couche mince (2.2.27) et chromatographie sur couche mince haute performance des drogues végétales et préparations à base de drogue végétale (2.8.25)	30
II.7.8.2. Chromatographie liquide (2.2.29)	31
II.7.8.3. Chromatographie en phase gazeuse (2.2.28)	37
II.7.8.4. Électrophorèse capillaire (2.2.47)	37
II.7.9. <i>Substances facilement carbonisables</i>	38
II.7.10. <i>Anions et/ou cations étrangers</i>	39
II.7.11. <i>Impuretés élémentaires</i>	39
II.7.12. <i>Perte à la dessiccation (2.2.32)</i>	40
II.7.13. <i>Thermogravimétrie (2.2.34)</i>	41
II.7.14. <i>Semi-microdosage de l'eau (2.5.12) (Karl-Fischer volumétrie)</i>	41
II.7.15. <i>Microdosage de l'eau (2.5.32) (Karl-Fischer coulométrie)</i>	41
II.7.16. <i>Dosage de l'eau par chromatographie en phase gazeuse</i>	42
II.7.17. <i>Détermination de l'eau par entraînement (2.2.13)</i>	42
II.7.18. <i>Cendres sulfuriques (2.4.14)</i>	42
II.7.19. <i>Résidu à l'évaporation</i>	42
II.7.20. <i>Solvants résiduels (2.4.24)</i>	42
II.7.21. <i>Endotoxines bactériennes</i>	43
II.8. DOSAGE	43
II.8.1. <i>Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25)</i>	44
II.8.1.1. Mesure directe	44
II.8.1.2. Mesure après réaction colorée	45
II.8.2. <i>Analyse volumétrique</i>	45
II.8.3. <i>Techniques basées sur la chromatographie</i>	46
II.8.4. <i>Dosage de l'azote après minéralisation par l'acide sulfurique (2.5.9)</i>	46
II.9. CONSERVATION	46
II.10. ÉTIQUETAGE	47
II.11. IMPURETÉS	47
II.12. CARACTÉRISTIQUES LIÉES À LA FONCTIONNALITÉ	48
III. VALIDATION ANALYTIQUE	49
III.1. TERMES ET DÉFINITIONS	49
III.1.1. <i>Introduction</i>	49
III.1.2. <i>Types de procédures analytiques à valider</i>	49
III.1.3. <i>Paramètres et exigences de validation</i>	50
III.1.4. <i>Glossaire</i>	51
III.2. MÉTHODOLOGIE	53
III.2.1. <i>Introduction</i>	53
III.2.2. <i>Spécificité</i>	53
III.2.2.1. Identification	54
III.2.2.2. Dosages et essais de pureté	54
III.2.3. <i>Linéarité</i>	55
III.2.4. <i>Intervalle de mesure</i>	55
III.2.5. <i>Exactitude</i>	56
III.2.5.1. Dosage	56
III.2.5.2. Impuretés (quantification)	57
III.2.5.3. Recommandations sur les données à fournir	57
III.2.6. <i>Fidélité</i>	57
III.2.6.1. Répétabilité	57
III.2.6.2. Fidélité intermédiaire	57
III.2.6.3. Reproductibilité	58
III.2.6.4. Recommandations sur les données à fournir	58
III.2.7. <i>Limite de détection</i>	58
III.2.7.1. Évaluation visuelle	58
III.2.7.2. Rapport signal/bruit	58
III.2.7.3. Écart type des réponses et pente	58

III.2.7.4. Recommandations sur les données à fournir	59
<i>III.2.8. Limite de quantification</i>	59
III.2.8.1. Évaluation visuelle.....	59
III.2.8.2. Rapport signal/bruit	59
III.2.8.3. Écart type des réponses et pente	59
III.2.8.4. Recommandations sur les données à fournir	60
<i>III.2.9. Robustesse</i>	60
<i>III.2.10. Vérification de la conformité du système</i>	61
III.3 APPLICATION SPÉCIFIQUE AUX PROCÉDURES ANALYTIQUES UTILISÉES DANS LA PH. EUR.	61
<i>III.3.1. Pouvoir rotatoire (2.2.7)</i>	<i>61</i>
III.3.1.1. Introduction	61
III.3.1.2. Identification	61
III.3.1.3. Essai	61
<i>III.3.2. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet (2.2.25)</i>	<i>62</i>
III.3.2.1. Identification	62
III.3.2.2. Essai limite	62
III.3.2.3. Dosage	62
<i>III.3.3. Essais limites non instrumentaux</i>	<i>63</i>
III.3.3.1. Aspect de la solution (2.2.1 et 2.2.2)	63
III.3.3.2. Acidité ou alcalinité	63
III.3.3.3. Essais limites des anions/cations (2.4)	63
<i>III.3.4. Spectrométrie d'absorption atomique (2.2.23)</i>	<i>64</i>
III.3.4.1. Spécificité	64
III.3.4.2. Étalonnage	64
III.3.4.3. Effets de matrice	65
III.3.4.4. Limites de détection et de quantification (estimation fondée sur l'écart type du blanc)	65
<i>III.3.5. Techniques séparatives</i>	<i>65</i>
III.3.5.1. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).....	66
III.3.5.2. Chromatographie liquide (2.2.29)	67
III.3.5.3. Chromatographie en phase gazeuse (2.2.28)	68
<i>III.3.6. Semi-microdosage de l'eau (2.5.12)</i>	<i>70</i>
<i>III.3.7. Titrages volumétriques (2.5.11, 2.2.19, 2.2.20)</i>	<i>70</i>
<i>III.3.8. Identification des peptides par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (2.2.64)</i>	<i>73</i>

1

2 I. INTRODUCTION

3 I.1 OBJECTIFS DU GUIDE

4 Ce document constitue un guide à l'usage des rédacteurs·trices de monographies, ainsi qu'un outil
5 permettant de faire connaître aux utilisateurs·trices de la Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.),
6 notamment l'industrie, les autorités d'enregistrement et les laboratoires officiels de contrôle des
7 médicaments, les principes régissant l'élaboration et la révision des monographies. Comme il
8 convient que les principes définis et les indications fournies pour l'élaboration et la révision des
9 monographies soient les mêmes que ceux appliqués par les autorités d'enregistrement, le présent
10 guide technique peut également faire office d'orientation en matière d'élaboration de spécifications
11 destinées à figurer dans les demandes d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

12 Il est important de rappeler que les monographies constituent des normes d'application obligatoire
13 dans le cadre des procédures d'AMM dans tous les États signataires de la Convention relative à
14 l'élaboration d'une Pharmacopée européenne.

15 Dans la suite de ce guide, le terme « élaboration » désigne à la fois l'élaboration et la révision des
16 monographies.

17 I.2 PROCÉDURES ANALYTIQUES

18 Les procédures analytiques choisies pour les essais d'identification, de pureté et le ou les dosages
19 constituant l'essentiel d'une monographie de pharmacopée sont, de préférence, celles qui sont déjà
20 décrites et utilisées dans la Ph. Eur. Dans ce contexte, l'auteur·trice d'une monographie doit se
21 référer non seulement aux chapitres généraux de la Ph. Eur., mais également aux monographies
22 publiées couvrant des substances similaires. Ces recommandations ont pour but d'assurer un degré
23 d'harmonisation raisonnable au sein de la Ph. Eur. et ne sont valables que si les procédures sont
24 jugées adaptées aux fins considérées. Il convient néanmoins de tenir également compte du
25 développement de nouvelles procédures apportant des améliorations significatives en matière de
26 sensibilité, de fidélité, d'exactitude ou de spécificité/sélectivité.

27 Les procédures analytiques figurant dans les monographies sont validées comme décrit dans la
28 partie III (VALIDATION ANALYTIQUE) et dans d'autres parties spécifiques de ce guide. Les
29 rapports de validation sont transmis à l'EDQM, mais ne sont ni publiés ni communiqués aux
30 utilisateurs·trices.

31 Les procédures analytiques figurant dans une monographie sont validées, puis vérifiées dans deux
32 laboratoires au moins. L'un d'entre eux peut être le fournisseur de la procédure, qui l'a validée en
33 premier lieu.

34 Les rapports de laboratoire sur la validation et la vérification doivent être communiqués à l'EDQM,
35 afin d'en assurer la traçabilité.

36 Les instructions relatives à toute procédure analytique couvrent l'ensemble des facteurs susceptibles
37 d'influer sur les résultats et jugés essentiels pour permettre à un·e analyste expérimenté·e –

38 travaillant conformément aux pratiques de laboratoire reconnues, mais n'ayant pas pour autant une
39 connaissance préalable de l'analyse en question – d'effectuer cette analyse. L'emploi de variantes
40 dans la description de procédures similaires est à éviter.

41 Si une procédure analytique a vocation à être utilisée dans la pratique courante ou si elle requiert
42 une longue description et est utilisée dans plus d'un cas, son inclusion dans les chapitres généraux
43 de la Ph. Eur., auxquels renverront les monographies spécifiques, peut être proposée. Les
44 procédures sont appliquées à l'échelle conventionnellement utilisée dans la Ph. Eur., sauf dans les
45 cas où une analyse à petite échelle semble préférable, pour des raisons de disponibilité de la
46 substance à analyser ou en raison de sa toxicité ou de son coût.

47 I.3 ÉQUIPEMENT

48 Si l'équipement utilisé pour une procédure analytique n'est pas disponible dans tous les États parties
49 à la Convention relative à l'élaboration d'une Pharmacopée européenne, il doit pouvoir être
50 construit à partir de sa description dans la Ph. Eur.

51 I.4 PRISES D'ESSAI

52 Pour prescrire les prises d'essai (masses et volumes de substances, de réactifs et de solvants à utiliser
53 pour l'analyse), la pratique en vigueur dans la Ph. Eur. est d'indiquer, avec le nombre de chiffres
54 significatifs qui convient, la valeur (quantité) cible exacte à mesurer (voir *Prescriptions générales*,
55 paragraphe sur les prises d'essai). Cet aspect est donc à prendre en compte pour la rédaction des
56 textes de la Ph. Eur.

57 Les estimations de l'incertitude relative figurant dans le tableau 1 sont utiles pour réduire autant que
58 possible l'erreur associée à la préparation des solutions soumises à l'analyse.

59 Afin d'éviter l'emploi de prises d'essai excessivement faibles ou la consommation inutile de
60 grandes quantités de solvants, il est souvent nécessaire de prescrire des dilutions en série pour la
61 préparation des solutions utilisées, notamment pour les mesures spectrophotométriques. Dans ce
62 cas, les différentes associations possibles des étapes de dilution (généralement, deux ou trois) ne
63 sont pas toutes équivalentes du point de vue de l'erreur aléatoire associée à la procédure de dilution.
64 Si nécessaire, il convient de prescrire la méthode de dilution optimale, compte tenu de l'erreur
65 relative (tolérance de capacité divisée par volume nominal) associée aux différentes tailles de
66 pipettes jaugées et de fioles jaugées communément utilisées pour ces opérations. La formule
67 standard suivante est utilisée pour estimer l'erreur relative associée à la dilution : racine carrée de
68 la somme des carrés des erreurs relatives individuelles.

69 On trouve, dans la littérature, des tableaux indiquant le nombre optimal et la nature des dilutions
70 successives nécessaires pour obtenir un rapport de dilution donné, sur la base des spécifications
71 relatives aux tolérances de capacité de la verrerie jaugée. Le tableau 2 contient des indications sur
72 ce point (notez que les facteurs indiqués n'incluent pas l'erreur de lecture).

73

74

75 *Tableau 1 – Incertitude relative associée à la préparation des solutions soumises à l'analyse*

Concentration souhaitée	Préparation de la solution	Incertitude relative (%)		
		Masse	Volume	Total
10 g/1000 mL	10 g/1000 mL	< 0,01	0,05	0,05
	1 g/100 mL	0,02	0,12	0,12
	0,5 g/50 mL	0,04	0,17	0,17
	0,25 g/25 mL	0,08	0,23	0,24
	0,1 g/10 mL	0,02	0,50	0,54
1 g/1000 mL	1 g/1000 mL	0,02	0,05	0,05
	0,5 g/500 mL	0,04	0,07	0,08
	0,25 g/25 mL	0,08	0,23	0,24
	100 mg/100 mL	0,2	0,12	0,23
	50 mg/50 mL	0,4	0,17	0,43
	10 mg/10 mL	2,0	0,50	2,06
0,1 g/1000 mL	100 mg/1000 mL	0,2	0,05	0,21
	50 mg/500 mL	0,4	0,07	0,41
	25 mg/250 mL	0,8	0,08	0,80
	10 mg/100 mL	2,0	0,12	2,0
	5 mg/50 mL	4,0	0,17	4,0
	1 mg/10 mL	20,0	0,50	20,0
0,01 g/1000 mL	10 mg/1000 mL	2,0	0,05	2,0
	5 mg/500 mL	4,0	0,07	4,0
	1 mg/100 mL	20,0	0,12	20,0

76

77 Le calcul des incertitudes relatives (%) a été effectué sur la base d'une incertitude de pesée de 0,2 mg.

78

79

80 *Tableau 2 – Erreur relative associée à la dilution à l'aide de verrerie jaugée (P : pipette/F : fiole)*

Rapport de concentration	Nombre d'étapes	Étape 1		Étape 2		Erreur relative
		P	F	P	F	
1/2	1	25	50			0,16
1/2,5	1	20	50			0,18
1/5	1	20	100			0,17
1/10	1	25	250			0,13
1/12,5	1	20	250			0,16
1/30	1	15	500			0,20
1/50	1	20	1000			0,15
1/100	1	25	250	25	250	0,18
1/125	2	20	250	25	250	0,20
1/160	2	25	1000	25	100	0,19
1/200	2	25	500	25	100	0,18
1/250	2	20	250	25	500	0,20
1/400	2	25	250	25	1000	0,18
1/500	2	20	500	25	500	0,20
1/1000	2	20	1000	25	500	0,20

81
82
83

Adapté de R.B. Lam et T.L. Isenhour, Minimizing relative error in preparation of standard solutions by judicious choice of volumetric glassware, *Analytical Chemistry*, 1980, **53**, 1158–1161.

84 **I.5 RÉACTIFS**

85 Lorsque la qualité d'un réactif est critique – à un ou plusieurs égards – pour l'usage auquel il est
86 destiné, elle doit être définie avec soin. Pour ce faire, des essais permettant de démontrer que le
87 réactif est approprié doivent être prescrits. En général, les réactifs utilisés sont de qualité analytique
88 et il suffit d'en indiquer le nom, le numéro CAS et la formule.

89 Les réactifs, solutions de réactifs, solutions tampons, solutions titrées et solutions étalons déjà
90 décrits dans le chapitre général 4. *Réactifs* de la Ph. Eur. doivent être utilisés chaque fois que
91 possible. Les solutions simples de réactifs qui ne sont utilisées qu'une fois doivent être décrites
92 dans la monographie elle-même.

93 L'emploi de réactifs reconnus comme fortement toxiques ou comme présentant d'autres risques
94 (cancérogènes, par exemple) est à éviter, surtout dans des conditions dans lesquelles les propriétés
95 dangereuses sont difficiles à contrôler (lors de leur manipulation sous forme de poudre fine ou de
96 réactif de pulvérisation, par exemple). L'emploi de substances interdites ou soumises à restriction
97 dans un ou plusieurs des États parties à la Convention relative à l'élaboration d'une Pharmacopée
98 européenne (réactifs contenant du mercure, substances incluses dans l'[annexe XIV du](#)
99 [Règlement REACH](#), etc.) doit également être évité. Concernant les monographies dans lesquelles

ces réactifs sont toujours décrits et dans l'objectif d'éviter d'y avoir recours, il convient que chaque groupe d'experts concerné amorce une révision de l'essai correspondant, si cela est possible.

I.6 DÉNOMINATION COMMERCIALE

La dénomination commerciale des plaques/colonnes chromatographiques et des solvants/réactifs/conditions utilisés dans le cadre des dosages de l'eau est systématiquement précisée en note de bas de page, dans les projets de monographies. Elle peut également être indiquée pour d'autres produits (kits d'analyse, réactifs disponibles auprès d'un seul fournisseur, types de filtre, etc.), si cela est jugé utile pour les analystes. Cette indication sera transférée dans la base de données Knowledge de l'EDQM, après adoption de la monographie, et n'est pas publiée dans la Ph. Eur.

I.7 ÉTALONS DE RÉFÉRENCE

La politique générale relative aux étalons de référence de la Ph. Eur. est fournie à titre informatif dans le chapitre général 5.12. *Étalons de référence*. Outre l'obtention des substances candidates, l'EDQM est responsable de l'établissement, du stockage et de la distribution des étalons de référence. Lorsque des substances candidates, notamment des étalons d'impuretés, ne sont disponibles qu'en quantité limitée, l'utilisation d'une quantité d'étalon aussi faible que possible est prescrite pour la préparation des solutions. Pour cette même raison, lorsqu'un étalon de référence est introduit dans une monographie ou dans un chapitre général, sa disponibilité à long terme doit également être prise en compte. Avant publication d'une monographie dans *Pharmeuropa*, il est souhaitable que les substances candidates soient fournies en quantité requise à l'EDQM, qui indiquera la meilleure stratégie à suivre en ce qui concerne les étalons de référence, tout en optimisant l'utilisation des substances qui ne sont disponibles qu'en quantité limitée (préparation d'une substance dopée, utilisation d'un « échantillon impur » ou fourniture de la seule impureté). L'EDQM cherche aussi à faire en sorte que les étalons de référence soient disponibles à la date de publication de la monographie ou, lorsque c'est impossible, à la date de mise en application du texte, au plus tard. Pour ce faire, il est impératif que la substance candidate soit disponible en quantité suffisante à l'EDQM, avant que la monographie soit adoptée.

Pour l'identification infrarouge (IR), la préférence est donnée aux substances chimiques de référence (SCR) plutôt qu'aux spectres de référence, sauf dans certains cas spéciaux (lorsqu'elles sont difficiles à obtenir, par exemple). Pour les monographies de stupéfiants/psychotropes, le groupe d'experts concerné peut exceptionnellement décider de décrire, dans l'essai d'identification, une SCR et un spectre de référence.

II. MONOGRAPHIES DE SUBSTANCES POUR USAGE PHARMACEUTIQUE ¹

Les monographies sont fondées sur les spécifications qui s'appliquent aux substances entrant dans

¹ Le cas échéant, les dispositions de cette section s'appliquent aux monographies de médicaments. Dans le cas contraire, voir les autres guides techniques pertinents, notamment le [Guide technique pour l'élaboration des monographies de](#)

134 la composition des médicaments approuvés dans les États membres. Lorsqu'une monographie est
 135 inscrite au programme de travail, l'EDQM lance une enquête pour identifier les fabricants des
 136 substances concernées et toutes les données reçues sont prises en compte pour élaborer la
 137 monographie. Les parties intéressées sont invitées à participer à l'élaboration de la monographie
 138 lorsque le sujet est ajouté au programme de travail, afin de permettre la prise en compte de leurs
 139 spécifications approuvées.

140 Préalablement à l'élaboration d'une monographie, il est indispensable de réunir le plus
 141 d'informations possible sur la substance à examiner. Il est, tout particulièrement, nécessaire
 142 d'établir :

- 143 • si la substance en question est d'origine naturelle, synthétique ou hémisynthétique,
- 144 • s'il s'agit d'un mélange ou d'une entité unique,
- 145 • s'il existe différentes formes cristallines, car ce paramètre peut avoir une influence sur les
 146 propriétés de la substance,
- 147 • s'il existe à la fois un énantiomère et le racémate ou d'autres mélanges d'énantiomères,
- 148 • s'il existe des substances dont le degré d'hydratation (défini ou variable) diffère,
- 149 • si la substance est disponible sous la forme d'un solvate (à l'exclusion des hydrates),
- 150 • s'il existe différentes entités (acide, base, sel, etc.),
- 151 • dans les cas appropriés, la ou les méthodes de préparation.

152
 153 Il est nécessaire de consulter la Ph. Eur., ainsi que tout autre document utile sur l'état d'avancement
 154 des travaux, pour déterminer si des monographies portant sur des substances similaires ont été
 155 publiées ou sont en cours d'élaboration. Si tel est le cas, il est important de suivre la même approche
 156 pour la nouvelle monographie, à moins qu'il existe de bonnes raisons de s'en écarter (évolution des
 157 techniques analytiques ou spécifications différentes, par exemple).

158 Lorsqu'une substance existe à la fois sous forme exempte d'eau et sous celle d'un ou de plusieurs
 159 hydrates avec des teneurs en eau différentes et que toutes ces formes sont utilisées, elles sont
 160 habituellement traitées comme des substances distinctes, qui font l'objet de monographies
 161 séparées. Cette règle s'applique à l'ensemble des solvates.

162 Il arrive que la substance à décrire dans une monographie fasse partie d'un groupe de substances
 163 étroitement apparentées (famille). C'est notamment le cas pour certains excipients, tels que les
 164 macrogols. Une monographie-cadre (« monographie portant sur une famille de substances »),
 165 qui décrit clairement les attributs communs à toutes les substances de la même famille et qui
 166 peut être utilisée pour identifier individuellement chacune de ces substances, doit alors être
 167 rédigée.

168 La plupart des substances actives et des excipients relèvent des dispositions de la monographie
 169 générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*.

170 II.1 TITRE

171 Il convient d'utiliser, lorsqu'elle existe, la dénomination commune internationale (DCI) établie par

172 l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), sauf indication contraire justifiable. Elle est complétée,
 173 au besoin, par le nom de l'anion ou du cation associé et par le degré d'hydratation. La désignation
 174 des anions et cations comporte le cas échéant la précision « mono- », « di- », « tri- », etc.

175 Les règles suivantes s'appliquent pour le degré d'hydratation :

- 176 • Lorsqu'une monographie couvre un hydrate bien défini, le titre contient la mention « mono-
 177 , 1,5-, di-, tri-, etc. hydraté(e) », alors que si elle couvre plusieurs formes d'hydratation, le
 178 titre comporte simplement la mention « hydraté(e) ». Dans ce cas, une phrase est ajoutée
 179 dans la section DEFINITION de la monographie (voir partie II.3). Pour les monographies
 180 publiées antérieurement à la 9^e Édition de la Ph. Eur., l'introduction rétrospective du degré
 181 d'hydratation dans le titre ne doit être effectuée qu'après une évaluation minutieuse.
- 182 • Depuis la publication de la 9^e Édition de la Ph. Eur., lorsqu'une monographie se rapporte à
 183 la forme anhydre d'une substance, le titre ne le précise plus, sauf dans les quelques
 184 monographies pour lesquelles cette information a une valeur ajoutée reconnue et/ou fait
 185 partie du langage scientifique courant (*Éthanol anhydre*, par exemple).
- 186 • Lorsqu'une monographie couvre une substance à la fois sous sa forme anhydre et sous sa
 187 forme hydratée (avec un degré d'hydratation défini ou variable), aucune mention ne figure
 188 dans le titre. Cette information complémentaire est indiquée dans la section DEFINITION de
 189 la monographie (voir partie II.3).

190 Lorsqu'une substance est utilisée dans des médicaments à usage exclusivement vétérinaire
 191 approuvés dans les États membres, le titre contient la mention « pour usage vétérinaire ».

192 II.2 FORMULES, MASSES ET NUMÉROS CAS

193 La structure chimique doit être déterminée le plus précisément possible, afin de pouvoir établir
 194 exactement :

- 195 • la formule développée ;
- 196 • la formule brute et la masse moléculaire relative, qui est calculée comme suit : les masses
 197 atomiques relatives ou leurs multiples sont additionnés en utilisant tous les chiffres de la
 198 Table internationale des masses atomiques relatives, puis le total est arrondi,
 199 conformément aux règles générales, et indiqué avec quatre chiffres significatifs si la masse
 200 moléculaire est inférieure à 600, avec trois chiffres significatifs sinon ;
- 201 • le numéro CAS, indiqué à titre informatif, le cas échéant ;
- 202 • la dénomination chimique (mentionnée dans la section DEFINITION). Il s'agit en particulier :
 - 203 ○ d'étudier l'existence éventuelle d'isomères, de façon à pouvoir spécifier quel est
 204 l'isomère utilisé ou, à défaut, préciser que le produit est un mélange d'isomères ;
 - 205 ○ dans le cas d'un stéréoisomère, de ne pas se limiter au sens du pouvoir rotatoire. La
 206 configuration absolue est indiquée à l'aide de la nomenclature IUPAC pour le ou les
 207 centres d'asymétrie, par exemple le système *R/S* ou tout autre système approprié,
 208 notamment pour les glucides et les acides aminés ;
 - 209 ○ de préciser l'état d'hydratation, de façon à faire une distinction claire entre les hydrates
 210 bien définis (mono-, di-, tri-, etc. hydraté(e)) et les produits contenant des quantités
 211 variables d'eau. Dans le second cas, la dénomination chimique comporte le terme « x-
 212 hydraté(e) ».

213 II.3 DÉFINITION

214 Si la substance contient une quantité variable d'eau, ou si la monographie couvre une substance à
 215 la fois sous sa forme anhydre et sous différentes formes d'hydratation, une phrase précisant le
 216 champ d'application exact de la monographie est incluse dans la section DEFINITION.

217 Certaines substances chimiques, en particulier celles obtenues à partir de matières premières
 218 d'origine naturelle ou de substances obtenues par fermentation, peuvent être difficiles à séparer de
 219 certaines substances apparentées (sels de quinine, par exemple). Ces substances peuvent être
 220 traitées comme :

- 221 • une substance chimique, lorsqu'elles sont obtenues à un état de haute pureté et peuvent être
 222 dosées par une méthode physicochimique,
- 223 • une substance accompagnée d'une certaine proportion de substances apparentées, auquel
 224 cas seul le composant principal est défini exactement (néomycine, par exemple),
- 225 • un mélange de plusieurs composants, parfois difficile à définir, auquel cas une description
 226 globale peut suffire (nystatine, par exemple).

227
 228 S'il y a lieu, l'origine de la substance (nom et souche de l'organisme à partir duquel la substance
 229 est obtenue) doit être précisée. Le cas échéant, la monographie précise que la substance est
 230 hémisynthétique et qu'elle est dérivée d'un produit de fermentation – pour clarifier l'application
 231 de la monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*.

232 II.3.1. Associations

233 Des associations chimiques plus ou moins bien définies (théophylline-éthylènediamine, par
 234 exemple), voire des mélanges sont parfois utilisés dans les médicaments. Il est alors indispensable
 235 de définir précisément chaque composant de l'association ou du mélange, sa structure chimique et
 236 la proportion dans laquelle il est présent.

237 II.3.2. Teneur

238 La substance décrite dans une monographie n'est jamais parfaitement pure, elle contient toujours
 239 une proportion limitée d'impuretés. La teneur forme donc une partie importante de la définition ;
 240 elle est donnée sous forme de limites à l'intérieur desquelles doit se situer le résultat du dosage. Ces
 241 limites sont établies en tenant compte :

- 242 • du procédé de fabrication, qui détermine le degré de pureté pouvant être raisonnablement
 243 atteint,
- 244 • de la reproductibilité et l'exactitude de la procédure analytique,
- 245 • des données de lots actuelles, provenant d'au moins 10 lots de production au moment de
 246 leur libération,
- 247 • de l'évaluation de données de stabilité,
- 248 • des résultats expérimentaux, obtenus en nombre suffisant sur plusieurs lots (au minimum
 249 trois), si possible d'origine et d'âge différents.

250
 251 Dans le cas d'une titrimétrie non spécifique, les limites sont établies selon les indications du tableau
 252 figurant dans la partie III.3.7 (généralement, 99,0-101,0 %). Certaines monographies contiennent

- 253 encore un dosage par spectrophotométrie UV-Vis, pour lequel des limites plus larges sont
254 généralement définies.
- 255 Dans le cas d'un dosage spécifique effectué par une technique séparative (chromatographie liquide
256 ou en phase gazeuse, par exemple), la limite de teneur supérieure est normalement de 102,0 % ; la
257 limite de teneur inférieure tient compte des impuretés présentes, sur la base des données de
258 lot/stabilité et des spécifications approuvées. Elle peut donc être inférieure à 98,0 %.
- 259 Lorsque la substance à examiner contient exclusivement des impuretés n'interférant pas dans le
260 dosage ou lorsqu'elle contient une très faible proportion d'impuretés interférant dans le dosage, les
261 résultats du dosage peuvent être utilisés directement. Il est alors spécifié que « *[la substance à
262 examiner] contient au minimum x pour cent et au maximum l'équivalent de y pour cent* (au moins
263 100,5 %, mais souvent un peu plus) *de [dénomination chimique de la substance pure]* ». La teneur est
264 habituellement exprimée par rapport à la substance anhydre ou desséchée. Selon la monographie
265 générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*, la teneur en solvants résiduels est prise
266 en compte dans le calcul, lors du dosage de la substance ; elle n'est donc pas mentionnée dans la
267 section DEFINITION de la monographie spécifique.
- 268 Dans le cas des substances dont la teneur en eau est élevée (phosphate disodique dodécahydraté, par
269 exemple), les limites de teneur peuvent être exprimées soit par rapport à la forme hydratée de la
270 substance, dont la masse moléculaire est utilisée dans le calcul (approche réservée aux hydrates bien
271 définis), soit par rapport à la substance anhydre/desséchée, auquel cas la monographie comporte
272 une détermination de la teneur en eau/perte à la dessiccation.
- 273 Lorsque la substance à examiner contient une proportion relativement importante (de l'ordre de
274 quelques pour cent) d'impuretés, qui sont dosées en même temps que la substance active, une
275 formulation appropriée doit être utilisée (par exemple, dans le cas des sels de quinine, « *x pour cent
276 de sels d'alcaloïdes totaux, exprimés en sels de quinine* »).
- 277 À titre exceptionnel, il peut n'être fait référence qu'à une partie ou à un élément particulier de la
278 molécule (dosage de l'oxyde de magnésium dans le carbonate de magnésium léger ou du
279 magnésium dans le stéarate de magnésium, par exemple).
- 280 Dans le cas des antibiotiques titrés par voie microbiologique, la teneur en substance active est
281 exprimée en Unités Internationales, lorsqu'elles existent, et seule une teneur minimale est indiquée.
- 282 Voir également partie II.8.

283 II.4 PRODUCTION

284 Les dispositions de la section PRODUCTION mettent l'accent sur des aspects particuliers du procédé
285 de fabrication, mais elles ne sont pas nécessairement exhaustives. Sauf indication contraire, elles
286 constituent des exigences d'application obligatoire pour les fabricants. Pour en savoir plus, voir les
287 *Prescriptions générales*.

288 II.5 CARACTÈRES

289 Comme indiqué dans les *Prescriptions générales*, les indications figurant dans la section
290 CARACTERES d'une monographie ne sont pas à interpréter au sens strict et ne sont pas considérées

291 comme des exigences. Les points principaux auxquels il peut être fait référence dans cette section
292 sont énumérés ci-dessous.

293 II.5.1. Aspect

294 La description porte généralement sur la couleur et sur la forme physique. Il faut veiller à ne pas
295 utiliser le mot « blanc » sans autre précision, car, par rapport à une substance témoin blanche, très
296 peu de substances pharmaceutiques paraissent réellement blanches. Cette comparaison n'est, bien
297 évidemment, pas censée être effectuée, mais l'expérience montre que certain-es utilisateurs-trices de la
298 Ph. Eur. peuvent insister sur ce point dans le cadre d'un contrat d'achat. L'expression « blanc ou
299 sensiblement blanc » est donc employée à la place. La description des couleurs est faite en termes
300 de couleurs primaires ou de combinaisons de couleurs primaires.

301 II.5.2. Saveur

302 La saveur n'est pas à prendre en considération.

303 II.5.3. Odeur

304 Il n'est, en général, pas fait référence à l'odeur, en particulier pour les substances qui présentent un
305 risque à l'inhalation. Dans les autres cas, la mention de l'odeur doit être justifiée.

306 II.5.4. Solubilité

307 En ce qui concerne les substances solides, toute indication de solubilité est exprimée dans les termes
308 définis dans le chapitre général 5.11. *Section Caractères dans les monographies*, qui comprend
309 également une procédure recommandée pour l'estimation de la solubilité. En ce qui concerne les
310 substances liquides, il est précisé si elles sont miscibles ou non. Les solvants cités se limitent
311 normalement à l'eau, à un alcool et à un solvant lipophile (eau, éthanol à 96 pour cent ou éthanol
312 anhydre, heptane, par exemple). La solubilité dans le chloroforme et dans l'éther n'est pas
313 mentionnée, et l'emploi d'hexane est à éviter. Dans certains cas exceptionnels, la solubilité de
314 différents échantillons d'une substance peut varier considérablement, même si leur composition se situe
315 encore dans les limites prescrites par la monographie. La solubilité dans les différents solvants
316 concernés est alors indiquée de façon à couvrir plusieurs classes de solubilité (« *assez soluble à*
317 *soluble dans...* », par exemple). Il peut être utile, dans certains cas, de préciser la solubilité dans les
318 alcalis ou les acides. Un solvant spécial peut être mentionné (diméthylformamide ou diméthylsulfoxyde,
319 par exemple), particulièrement pour les substances très insolubles dans les solvants mentionnés ci-dessus.
320 Il n'est pas nécessaire de spécifier la solubilité dans tous les solvants utilisés pour effectuer les essais de la
321 monographie. La solubilité ou la miscibilité dans d'autres solvants auxquels la substance est souvent
322 associée en pratique (huiles grasses, par exemple) peut également être mentionnée.

323 II.5.5. Instabilité

324 Toute manifestation d'instabilité liée à l'exposition à l'air, à la lumière et à l'humidité doit être
325 signalée (le sulfate de physostigmine vire au rouge lorsqu'il est exposé à l'air et à la lumière, par
326 exemple). Cette indication, dans la section CARACTERES, fait l'objet d'une mention distincte de la
327 description de la substance.

328 II.5.6. Hygroscopicité

329 Le chapitre général 5.11. *Section Caractères dans les monographies* décrit une méthode
 330 pragmatique recommandée pour évaluer la tendance d'une substance à capter l'eau atmosphérique
 331 (plutôt qu'une réelle détermination de l'hygroscopicité). Le caractère hygroscopique ou
 332 déliquescent de certaines substances peut poser des difficultés de pesée. Ceci est alors précisé, à
 333 l'aide des termes définis dans le chapitre général 5.11, pour en informer l'analyste et l'alerter sur
 334 les précautions à prendre pour manipuler la substance. Lorsqu'une substance est hygroscopique,
 335 une section CONSERVATION est ajoutée (« *En récipient étanche* »).

336 II.5.7. Propriétés à l'état solide

337 Les propriétés à l'état solide comprennent la cristallinité et le polymorphisme, ainsi que la masse
 338 volumique, la granulométrie et la surface spécifique des solides. Ces propriétés, notamment le
 339 polymorphisme et le pseudopolymorphisme, peuvent influencer sur la biodisponibilité de la substance
 340 et sur la production du médicament. Il convient de consulter le chapitre général 5.9. *Polymorphisme*.

341 Le chapitre général 5.11. *Section Caractères dans les monographies* décrit une procédure
 342 recommandée pour déterminer la cristallinité.

343 Dans les monographies d'excipients, les propriétés à l'état solide qui influent sur la fonctionnalité
 344 peuvent être traitées dans la section CARACTERISTIQUES LIEES A LA FONCTIONNALITE (voir
 345 partie II.12).

346 La mention, dans une monographie, de l'existence d'un polymorphisme vise à alerter les
 347 utilisateurs·trices sur la nécessité d'évaluer ce phénomène lors du développement d'un médicament
 348 (voir également partie II.6.3. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge).

349 Deux cas sont à distinguer lorsque l'existence d'un polymorphisme est connue :

- 350 • en général, la monographie n'exclut aucune des formes cristallines possibles,
- 351 • exceptionnellement, si la substance est exclusivement utilisée dans des formes
 352 pharmaceutiques solides et s'il est établi que l'une des formes cristallines est préférable
 353 pour des raisons de biodisponibilité ou parce qu'elle présente un meilleur profil
 354 d'innocuité/efficacité, la monographie peut être circonscrite à cette forme, par l'ajout de la
 355 phrase suivante : « *Préparation : examinez les substances sans traitement préalable.* » Les
 356 techniques requises pour l'identifier figurent alors dans la section IDENTIFICATION.

357 II.5.8. Autres caractéristiques

358 D'autres caractéristiques physiques qui peuvent être utiles à titre informatif, mais qui ne sont pas
 359 suffisamment précises pour être définies dans les sections IDENTIFICATION ou ESSAI, peuvent être
 360 mentionnées dans la section CARACTERES. C'est généralement le cas du point de fusion lorsqu'il
 361 n'est pas assez précis pour qu'un intervalle puisse être indiqué ; lorsque l'établissement d'un
 362 intervalle est possible, le point de fusion peut figurer dans la section IDENTIFICATION. Tout potentiel
 363 de décomposition doit être signalé. Il peut également être nécessaire de mentionner, dans la section
 364 CARACTERES, d'autres caractéristiques générales, notamment le sens de la rotation optique dans un
 365 solvant particulier ou, pour les substances radioactives, la demi-vie du radionucléide et le type de
 366 rayonnement émis.

367 II.5.9. Comportement en solution

368 Lorsque l'on sait qu'une dégradation peut se produire en solution, un avertissement est inclus dans
369 le texte. Dans ce contexte :

- 370 • l'expression « *solution récemment préparée* » signifie que la solution est préparée chaque
371 fois que l'essai ou le dosage doit être effectué, et qu'elle est utilisée dans les 24 h,
- 372 • l'expression « *immédiatement avant l'emploi* » indique que la stabilité de la ou des solutions
373 concernées s'est avérée critique lors de l'élaboration du texte. Le temps qui s'écoule entre
374 leur préparation et leur utilisation doit alors être réduit autant que possible.

375 Par ailleurs, et lorsque c'est approprié dans les essais, il convient d'indiquer que les solutions
376 doivent être conservées à une certaine température et maintenues à une certaine température dans
377 un échantillonneur automatique.

378 II.6 IDENTIFICATION

379 II.6.1. Généralités

380 Dans une monographie, la section IDENTIFICATION vise à confirmer l'identité de la substance
381 considérée. L'identification, au sens de la Ph. Eur., est donc généralement de portée beaucoup plus limitée
382 que l'identification et/ou l'élucidation de la structure d'une substance inconnue ou la détermination de la
383 composition d'un mélange inconnu. Le fait d'identifier une substance ne doit pas être confondu avec
384 l'évaluation de sa pureté ou la détermination de sa concentration, même si *in fine* ces trois aspects
385 sont complémentaires.

386 Il s'ensuit que l'objectif premier des essais et réactions physiques et/ou chimiques inclus dans la
387 section IDENTIFICATION, considérés comme un ensemble, est d'assurer autant que possible la
388 spécificité. Il est souhaitable que l'identification soit suffisamment spécifique pour permettre de
389 distinguer les substances actives et les excipients possédant des structures voisines. Les essais ne
390 doivent pas être trop sensibles (les fausses réactions dues à la présence d'impuretés tolérées doivent
391 être évitées) et ne doivent pas non plus exiger de travaux expérimentaux plus importants que
392 nécessaire pour différencier la substance en question d'autres substances pharmaceutiques
393 disponibles dans le commerce. À cet égard, le temps requis pour effectuer un essai est également
394 pris en compte.

395 En général, une seule série d'essais d'identification est indiquée. Il arrive toutefois qu'une
396 monographie décrive deux séries d'essais d'identification alternatives (ou plus) qui sont
397 équivalentes et peuvent être utilisées de manière indépendante. Elles sont indiquées aux mêmes fins
398 (vérifier la présence de l'énantiomère souhaité, par exemple).

399 En outre, une seconde série d'essais d'identification est décrite pour certaines substances utilisées
400 en officine ou dans les pharmacies hospitalières (voir partie II.6.2). Il convient de ne pas la
401 confondre avec les séries alternatives mentionnées ci-dessus.

402 Certains des essais de pureté d'une monographie peuvent également servir à l'identification,
403 éventuellement sous une forme modifiée. Dans ce cas, il est possible d'utiliser un renvoi à la section
404 ESSAI ou DOSAGE. Cette approche est tout particulièrement indiquée si la différenciation entre des
405 substances étroitement apparentées dépend de propriétés qui interviennent également dans le

406 contrôle de la pureté et de la composition (teneur en eau de différents hydrates, chromatographie
 407 chirale d'énantiomères ou pouvoir rotatoire, viscosité de différents homologues de longueur de
 408 chaîne d'un polymère, etc.). Le renvoi à la section DOSAGE comprend souvent l'identification par
 409 comparaison des temps de rétention et des dimensions de pics (surfaces) correspondant à la
 410 substance à examiner et à une substance de référence. Les critères d'acceptation (écarts de temps de
 411 rétention autorisés, par exemple) ne figurent généralement pas dans la monographie, mais doivent
 412 être définis dans les systèmes de management de la qualité internes, sur le site des laboratoires
 413 utilisateurs. La section IDENTIFICATION de la monographie suffit à identifier l'article, même si elle
 414 comporte des renvois à d'autres sections.

415 La monographie d'une substance ne doit pas être traitée isolément. Lors de l'élaboration d'une série
 416 d'identifications, il convient d'examiner en parallèle d'autres substances similaires, qu'elles
 417 fassent ou non l'objet de monographies de la Ph. Eur., pour vérifier qu'une association particulière
 418 d'identifications, dans une série, permet de distinguer entre elles deux substances similaires.

419 Dans le cas d'une monographie portant sur une famille de substances, l'identification générale de
 420 la famille peut être complétée par des essais non spécifiques, mais discriminants, portant sur
 421 l'identification individuelle des substances qui la constituent.

422 Des exemples de méthodes d'identification sont donnés ci-dessous, avec pour certaines d'entre elles
 423 des indications détaillées sur leur mise en œuvre (partie II.6).

424 Méthodes instrumentales :

- 425 • analyse spectroscopique, par exemple enregistrement de spectres infrarouges (IR) ou de
- 426 spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN),
- 427 • examen chromatographique par chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou par
- 428 chromatographie liquide (CL).

430 D'autres méthodes peuvent également être utilisées, s'il y a lieu :

- 431 • détermination de constantes physiques, notamment le point de fusion, le point de
- 432 solidification, le point d'ébullition, le pouvoir rotatoire spécifique, le spectre UV,
- 433 l'absorbance spécifique, la densité, l'indice de réfraction et la viscosité,
- 434 • réactions chimiques, notamment réactions de coloration ou de précipitation (y compris
- 435 formation de dérivés ou de produits de dégradation, qui peuvent ensuite être soumis à un
- 436 examen physique) et détermination de constantes chimiques (indice de saponification,
- 437 d'esters, d'hydroxyle et d'iode),
- 438 • examen chromatographique par chromatographie sur couche mince (CCM) ou par
- 439 chromatographie sur couche mince haute performance (CCMHP).

441 II.6.2. Première et seconde identification

442 Certaines monographies comprennent des subdivisions (séries) intitulées « Première
 443 identification » et « Seconde identification ».

444 Le ou les essais de la première identification peuvent être utilisés en toutes circonstances. La
 445 seconde identification est réservée aux officines ou aux pharmacies hospitalières qui élaborent des
 446 préparations non soumises à autorisation, sous réserve que la traçabilité de la substance à un lot

447 certifié conforme à l'ensemble des exigences de la monographie puisse être établie et qu'elle soit
448 documentée dans un certificat d'analyse. La mise en œuvre des essais de la seconde identification
449 relève de la réglementation nationale. Elle n'a pas pour vocation à être appliquée par les fabricants
450 aux fins de contrôle qualité de médicaments approuvés (on présume que les bonnes pratiques de
451 fabrication sont appliqués).

452 Les essais décrits dans la seconde identification ont pour objectif de confirmer l'identité de la
453 substance à l'aide d'une instrumentation analytique abordable et de méthodes d'implémentation
454 accessibles, plutôt qu'à l'aide de technologies complexes. Il est recommandé de recourir, chaque
455 fois que possible, au point de fusion en mélange, à l'indice de réfraction et, s'il y a lieu, à la CCM
456 miniature, associés, si nécessaire, à des réactions chimiques en solution. Les essais de la seconde
457 identification doivent aboutir à au moins deux résultats confirmant l'identité de la substance. Ces
458 résultats peuvent être obtenus soit par deux essais indépendants (l'association de l'indice de
459 réfraction et de la densité, par exemple) soit par un essai unique fournissant au moins deux
460 informations sur l'identité de la substance (une CCM avec pulvérisation d'un réactif de détection,
461 par exemple).

462 Avant d'introduire une seconde série d'identification pour une substance, il convient d'évaluer au
463 cas par cas si des informations concrètes sur l'utilisation de la substance sont disponibles :

- 464 • dans un formulaire national ou dans une pharmacopée,
- 465 • dans des formulations préparées pour des groupes cibles ou des indications thérapeutiques
466 spécifiques, en l'absence de produit enregistré,
- 467 • pour la préparation en pharmacie (si elle est proposée à cet usage par les fournisseurs, par
468 exemple).

469 II.6.3. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge

470 La spectrophotométrie IR est généralement considérée comme une méthode autosuffisante pour
471 vérifier l'identité des substances organiques non ionisées autres que les sels d'acides ou de bases
472 organiques. Cette technique analytique nécessite toujours l'utilisation d'une substance de référence
473 ou d'un spectre de référence. L'emploi de substances de référence est préféré à celui de spectres
474 de référence. Ceux-ci sont utilisés lorsque la fourniture de substances de référence pose des
475 difficultés pratiques (en cas de toxicité ou d'instabilité particulière, par exemple).

476 Les sels organiques de substances organiques et certains sels inorganiques de substances organiques
477 (phosphates et sulfates, par exemple) sont faciles à différencier les uns des autres. Dans le cas des
478 sulfates, toutefois, il est nécessaire d'étendre la gamme habituelle d'enregistrement de 4000-
479 650 cm^{-1} à 4000-400 cm^{-1} .

480 Les monographies ne prescrivant habituellement pas de mode spécifique, tous les modes décrits
481 dans le chapitre général 2.2.24 (transmission ou ATR, par exemple) peuvent être utilisés. Le type
482 de préparation des échantillons (pastille, film entre deux plaques d'un sel halogéné, pâte, etc.) n'est
483 pas spécifié dans la monographie, sauf s'il a été constaté, lors des travaux d'élaboration, que
484 l'obtention d'un spectre satisfaisant en dépend.

485 Dans certains cas, le spectre IR seul ne suffit pas à confirmer l'identité de la substance et doit être
486 complété par d'autres essais.

- 487 • *Sels d'acides ou de bases organiques* : pour certains ions ou groupes fonctionnels faisant
488 partie d'une substance organique (contre-ion), plusieurs identifications peuvent être décrites

- 489 dans le chapitre général 2.3.1. Il est toutefois généralement suffisant d'en utiliser une seule.
- 490 • *Substances chimiquement apparentées* : certaines substances étroitement apparentées à la
- 491 substance à examiner peuvent présenter des spectres trop proches de celui de la substance
- 492 considérée pour qu'une identification sans ambiguïté soit possible. Dans ce cas, la
- 493 spectrophotométrie IR est doublée d'un autre essai simple (point de fusion ou CCM
- 494 effectuée par comparaison à une substance de référence, par exemple).
- 495 • *Polymorphisme* : la phrase « [La substance à examiner] présente un polymorphisme » n'est
- 496 ajoutée que lorsqu'au moins deux formes cristallines sont utilisées dans les médicaments
- 497 approuvés et que les différentes formes sont disponibles pour les essais.
- 498 Le chapitre général 2.2.24. *Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge* prévoit une
- 499 « recristallisation » avant enregistrement du spectre.
- 500 Si une monographie mentionne l'existence d'un polymorphisme, une méthode de
- 501 « recristallisation » y est décrite, sauf si l'on souhaite restreindre le champ d'application de
- 502 la monographie à la forme cristalline représentée par la substance chimique de référence.
- 503 Dans ce cas, la monographie indique que le spectre est enregistré « sans recristallisation ».
- 504 Dans certains cas exceptionnels, la monographie décrit une ou plusieurs formes cristallines
- 505 spécifiques et, si le spectre IR n'est pas caractéristique, un essai complémentaire est introduit.
- 506 • *Isomères optiques* : pour identifier un énantiomère ou un racémate donné, voir partie II.6.6.

507 II.6.4. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible

508 À la différence de la spectroscopie IR, cette méthode n'est habituellement pas assez spécifique pour

509 l'identification, sauf si la courbe d'absorption présente plusieurs maximums et minimums, des

510 régions d'absorption inhabituellement fortes ou faibles, etc.

511 Il est peu fréquent que des substances de référence soient utilisées aux fins d'identification. Le

512 spectre UV-Vis d'une substance est donc rarement utilisé comme unique critère d'identification.

513 La concentration de la solution à examiner est telle que l'absorbance, déterminée sous une épaisseur

514 de 1 cm, se situe de préférence entre 0,5 et 1,5.

515 L'intervalle de longueur d'onde à explorer doit être indiqué. Il ne s'étend généralement pas jusqu'à

516 la zone probable de fin d'absorption ou d'interférence du solvant. Les longueurs d'onde auxquelles

517 sont observés des pics aigus (maximums ou minimums) sont indiquées par une valeur unique, avec

518 un écart admis de ± 2 nm, tandis qu'un intervalle est indiqué pour les bandes plus larges. Lorsqu'il

519 est jugé nécessaire de mentionner la longueur d'onde des épaulements, le terme « environ » peut

520 être utilisé.

521 Les absorbances spécifiques sont également exprimées sous forme d'intervalle (généralement

522 ± 5 %) afin de couvrir les variations de teneur de la substance absorbante et l'erreur expérimentale.

523 Il est à noter que la tolérance instrumentale pour l'absorbance est de $\pm 0,010$ ou 1 %, selon la valeur la plus

524 élevée, ce qui signifie que l'écart en pourcentage dû à cette source de variabilité dépend de la valeur

525 absolue de l'absorbance. De plus, la teneur en substance absorbante varie avec la teneur en eau (ou

526 autre solvant) autorisée ; lorsque celle-ci ne dépasse pas 1 % ou se situe dans des limites bien définies,

527 il convient généralement de calculer l'absorbance spécifique de la substance « en l'état » et d'établir

528 les limites en conséquence. Lorsque le spectre présente plusieurs maximums, il est possible de

529 spécifier le ou les rapports entre les absorbances correspondantes, plutôt que les absorbances

530 spécifiques individuelles, à condition que ce rapport soit inférieur ou égal à 5. Ceci évite d'avoir à

531 corriger les absorbances pour tenir compte de la teneur en solvant de la substance.

532 Il est important de choisir avec soin les solvants prescrits pour la spectrophotométrie UV et de
 533 veiller à leur pureté, afin d'éviter la présence d'impuretés susceptibles d'affecter l'absorbance des
 534 substances à examiner.

535 Dans certains cas, la résolution de l'instrument peut constituer un facteur critique pour l'observation
 536 des caractéristiques spectrales recherchées (spectres de type benzénique présentant une structure
 537 fine, par exemple). La résolution minimale requise peut alors être indiquée dans la monographie.
 538 Pour déterminer cette valeur, il convient de faire varier la largeur de fente jusqu'à obtention d'un
 539 spectre parfaitement adapté à l'objectif. La résolution correspondant à ce réglage est alors définie
 540 expérimentalement sur la base du rapport des absorbances obtenu avec une solution à 0,02 % V/V
 541 de *toluène R* dans l'*hexane R* ou, de préférence, dans l'*heptane R*, comme prescrit dans le chapitre
 542 général 2.2.25. *Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible*. Le rapport minimal
 543 est indiqué avec deux chiffres significatifs, dans la monographie.

544 Le tableau 3 indique la relation approximative entre largeur de fente et rapport des absorbances.

545 *Tableau 3 – Résolution des spectrophotomètres en fonction de la largeur de fente*

Largeur de fente (nm)	Ratio $A_{\max 269 \text{ nm}}/A_{\max 266 \text{ nm}}$
0,25	2,3
0,5	2,2
1,0	2,0
2,0	1,4
3,0	1,1
4,0	1,0

546

547 II.6.5. Point de fusion, point de solidification et point d'ébullition

548 L'utilisation de ces constantes physiques pour l'identification n'est appropriée que si leur valeur est
 549 bien définie et si leur détermination ne s'accompagne pas d'une décomposition risquant de les
 550 rendre excessivement tributaires du mode opératoire. L'existence possible d'un polymorphisme
 551 doit également être prise en compte ; les différences éventuelles de point de fusion doivent être
 552 indiquées, même lorsqu'elles sont signalées dans la section CARACTERES. Dans les cas exceptionnels
 553 où il est nécessaire de distinguer une forme cristalline spécifique, la détermination du point de fusion
 554 peut aider à exclure la ou les formes indésirables.

555 Il est néanmoins important de ne pas oublier que la valeur observée peut correspondre à un point de
 556 fusion apparent. Une transition polymorphe solide-solide peut intervenir au cours de l'essai ; le point
 557 de fusion mesuré sera alors celui de la forme résultante.

558 Pour la première identification, la détermination du point de fusion, seule ou doublée d'une réaction
 559 chimique, n'est pas suffisante pour confirmer l'identité d'une substance. Il suffit néanmoins souvent
 560 d'associer l'un de ces deux essais à un autre essai d'identification, tel que l'IR. Pour la seconde
 561 identification, voir partie II.6.2.

562 Le point de fusion déterminé par la méthode capillaire est défini dans la Ph. Eur. (voir chapitre
 563 général 2.2.14. *Point de fusion – méthode au tube capillaire*) comme le point de fusion de la

564 dernière particule (point de fusion complète ou point de liquéfaction). Il ne doit pas être confondu
565 avec l'intervalle de fusion, même si ces deux valeurs sont données sous forme d'intervalle.

566 II.6.6. Identification des substances ayant un ou plusieurs stéréocentres

567 Lorsque la Ph. Eur. ne contient que la monographie du racémate, une détermination du pouvoir
568 rotatoire est prescrite dans la section ESSAI, à condition que le pouvoir rotatoire spécifique de la
569 forme chirale soit connu et qu'il soit suffisamment élevé pour permettre la confirmation du
570 caractère racémique.

571 Lorsqu'une monographie décrit uniquement un énantiomère, elle contient un essai de pureté
572 énantiomérique dans la section ESSAI et un renvoi dans la section IDENTIFICATION. Si cela n'est pas
573 possible, un essai du pouvoir rotatoire spécifique est ajouté dans la section ESSAI de la monographie
574 et un renvoi figure dans la section IDENTIFICATION.

575 Si deux monographies existent, couvrant l'une le racémate et l'autre l'énantiomère, la monographie
576 du racémate contient un essai du pouvoir rotatoire dans la section ESSAI et un renvoi dans la section
577 IDENTIFICATION. L'emploi d'un essai du pouvoir rotatoire est déconseillé dans d'autres situations, en
578 raison de son manque de spécificité.

579 II.6.7. Chromatographie sur couche mince

580 Cette méthode d'identification requiert l'emploi de substances de référence. Il est possible d'en
581 améliorer la sélectivité en associant CCM et réactions chimiques *in situ*, c'est-à-dire en employant
582 des réactifs de pulvérisation ou des réactifs de trempage appropriés. Dans ce cas, il n'y a pas lieu
583 de répéter en tube à essai la même réaction ni une réaction similaire.

584 Bien qu'il soit très important d'assurer la séparation d'une paire critique dans un essai des
585 substances apparentées, ceci ne joue par contre qu'un rôle mineur dans une identification. La
586 séparation d'un couple critique n'est plus exigée dans le cadre des essais d'identification
587 individuels, mais l'est dans la section ESSAI. Néanmoins, au cours du développement et de la
588 validation, il doit être démontré que la méthode assure une bonne séparation entre la substance et
589 les substances similaires.

590 Un essai du pouvoir de séparation chromatographique est généralement décrit dans le chapitre
591 général 4.1.1. *Réactifs* pour vérifier les performances du type de plaque concerné. Cet essai est
592 conçu comme une procédure de contrôle qualité, mise en œuvre périodiquement par
593 l'utilisateur·trice de la plaque CCM. Il est clair qu'une procédure générale de ce type ne peut être adaptée
594 à tous les problèmes de séparation chromatographique et qu'il est parfois nécessaire de décrire un critère
595 de séparation pour assurer l'identification de la substance. Dans ces cas, qui restent exceptionnels, un
596 critère de séparation est décrit dans la section IDENTIFICATION.

597 Si un système CCM est utilisé dans la monographie pour un essai de pureté, il est recommandé de
598 l'employer également pour l'identification, s'il est approprié. Dans ce cas, la concentration de la
599 solution à examiner et de la solution témoin correspondante est généralement réduite de façon à ce
600 que la quantité déposée sur la plaque soit de l'ordre de 5-20 µg. Il peut également être nécessaire de
601 passer à un système de détection plus discriminant.

602 Pour des exigences techniques relatives ces méthodes chromatographiques, voir partie II.7.8.

603 II.6.8. Chromatographie en phase gazeuse et chromatographie liquide

604 Les principes de base présentés pour l'identification par CCM s'appliquent en tenant compte des
605 différences entre les deux. La CPG et la CL sont de plus en plus utilisées aux fins d'identification.
606 Lorsqu'elles le sont, la section IDENTIFICATION renvoie à un essai ou à un dosage effectué par la
607 même technique ailleurs dans la monographie. Ces techniques ne sont utilisées qu'en l'absence
608 d'autre technique appropriée et jamais comme unique essai d'identification.

609 Pour des exigences techniques relatives à la CPG et à la CL, voir partie II.7.8.

610 II.6.9. Réactions chimiques

611 Plusieurs réactions d'identification de nature chimique couramment utilisées sont décrites dans les
612 chapitres généraux de la Ph. Eur. et doivent être utilisées chaque fois que possible. Lorsque le
613 chapitre général 2.3.1. *Réactions d'identité des ions et des groupes fonctionnels* décrit plusieurs
614 réactions pour un ion ou pour un groupement fonctionnel, il suffit généralement d'en prescrire une
615 seule dans la monographie. Notez qu'il est important de préciser la quantité de substance ou de
616 solution à utiliser pour l'essai d'identification en question. Il en va de même pour les essais qui
617 doivent être décrits en détail dans la monographie. Les réactions d'identification faisant appel à des
618 réactifs toxiques (réactifs REACH, par exemple) sont éliminées progressivement. Par conséquent,
619 il convient de porter une attention particulière au choix des réactions chimiques à intégrer dans les
620 monographies.

621 Les critères d'identification faisant appel à la reconnaissance d'une odeur ou d'une saveur sont à
622 éviter.

623 Chaque réaction chimique choisie doit démontrer la présence d'une partie différente de la molécule
624 à identifier.

625 Pour différencier, au sein d'un même groupe (famille), des substances se distinguant par le niveau
626 de condensation ou par la longueur de leur chaîne hydrocarbonée (acides gras, par exemple), un
627 renvoi à un ou plusieurs essais de pureté appropriés portant sur la détermination de certains indices
628 (indice d'iode, indice de saponification, etc.) doit être ajouté.

629 II.7 ESSAI

630 II.7.1. Généralités

631 La section ESSAI a pour principal objectif de limiter les impuretés dans les substances chimiques.
632 Le chapitre général 5.10. *Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique*
633 décrit en détail la politique à appliquer.

634 Si l'une des fonctions essentielles des monographies est d'assurer une pureté adéquate des
635 substances, dans un souci de santé publique, l'objectif de la Ph. Eur. n'est pas pour autant
636 d'imposer aux fabricants des exigences excessives qui limiteraient inutilement leur capacité à
637 produire des articles conformes.

638 Par souci de transparence, des informations sont fournies chaque fois que possible sur :

639 - les impuretés contrôlées par un essai,

640 - la teneur approximative (en pour cent, en ppm, etc.) qui équivaut à la limite prescrite pour
641 les impuretés ou pour la classe d'impuretés définies.

642 Outre les spécifications approuvées dans les autorisations de mise sur le marché, les critères
643 d'acceptation et les limites sont établis sur la base des données analytiques disponibles (c'est-à-dire
644 les résultats de lots fournis par les fabricants et les données produites lors de l'élaboration de la
645 monographie par les laboratoires qui effectuent les vérifications expérimentales). Pour définir les
646 limites applicables dans les essais (perte à la dessiccation, teneur en eau résiduelle, etc.), il est
647 possible d'utiliser la « règle des trois sigma » : dans une distribution normale, 99,7 % des valeurs se
648 situent dans les trois écarts types de la moyenne. Au minimum, 10 résultats d'essai, obtenus à partir
649 d'une seule source, doivent être disponibles pour calculer la moyenne. Il convient cependant de
650 noter que cette règle empirique n'est pas systématiquement appliquée. C'est tout particulièrement
651 le cas pour l'essai des substances apparentées, où il est souhaitable que les limites de teneur en
652 impuretés reflètent plus étroitement leur teneur réelle dans les substances entrant dans la
653 composition de médicaments approuvés.

654
655 *Exemple 1 : détermination de la spécification de teneur en eau (2.5.12)*

656 → Données de lots fournies par un fabricant : 10 lots

657 → Valeur min. : 3,2 %, valeur max. : 5,4 %

658 → Moyenne + 3 sigma = 6,1 %

659 *Conclusion : la limite de teneur en eau, selon la règle des trois sigma, est de 6,1 %.*

660
661 *Exemple 2 : détermination de la spécification de teneur en impureté X*

662 → Données de lots fournies par un fabricant pour la teneur en impureté X : 57 lots

663 → 52 lots ≤ 0,05 %, 4 lots ≈ 0,08 %, 1 lot à 0,09 %,

664 → Moyenne + 3 sigma = 0,11 %

665 *Conclusion : la règle des trois sigma n'est pas appliquée. La limite de teneur en impureté X est fixée*
666 *à 0,10 %, sur la base des données de lots.*

667
668 Il peut arriver qu'un essai s'applique spécifiquement à une qualité spéciale de la substance (destinée
669 à l'administration parentérale, à la préparation de solutions pour dialyse, etc.) ou comporte une
670 limite spécifique s'appliquant à un usage particulier. C'est alors précisé dans l'essai.

671 II.7.2. Titre des essais

672 Chaque fois que possible, le titre de l'essai doit indiquer quelle est l'impureté ou la classe
673 d'impuretés limitée par l'essai (Acide oxalique, Potassium, Cuivre, Chlorures, etc.). Les essais
674 limites non spécifiques portent un titre plus général, convenablement choisi à partir de la
675 terminologie standard de la Ph. Eur. (Aspect de la solution, pH, Acidité ou alcalinité, etc.) ou un
676 intitulé similaire. Les titres qui se réfèrent simplement à la méthodologie employée dans l'essai
677 (Absorbance, par exemple) sont à éviter, dans la mesure du possible.

678 II.7.3. Solution S

679 Une solution de la substance à examiner, appelée « solution S », est préparée lorsque la même
680 solution est utilisée dans plusieurs essais (et/ou identifications).

681 Si nécessaire, plusieurs solutions S (appelées « S1 », « S2 », etc.) peuvent être préparées selon des
682 modalités différentes, chacune étant toujours utilisée dans deux essais au moins.

683 Pour les substances insolubles, la solution S peut être préparée par extraction.

684 Le solvant utilisé dépend de l'objectif de l'essai, ainsi que de la solubilité de la substance à examiner
685 et de celle des impuretés potentielles. Il peut s'agir :

- 686 • d'eau (généralement) :
 - 687 ○ *eau exempte de dioxyde de carbone R* si la présence de dioxyde de carbone peut affecter
 - 688 de façon notable les résultats d'un essai (détermination du pH ou essai
 - 689 d'acidité/alcalinité, par exemple) (voir partie II.7.5),
 - 690 ○ *eau distillée R* si la solution S sert pour les essais du baryum, du calcium ou des sulfates,
 - 691 ○ *eau exempte de dioxyde de carbone R* préparée à partir d'eau distillée lorsque les deux
 - 692 conditions ci-dessus s'appliquent,
- 693 • d'un acide dilué ou d'une solution alcaline,
- 694 • plus rarement, d'autres solvants (alcools, tétrahydrofurane, etc.) qui fournissent des
- 695 solutions de champ d'utilisation plus réduit que celui des solutions aqueuses.

696
697 Le solvant doit permettre de procéder aux essais spécifiés, soit directement soit après des dilutions
698 appropriées, explicitement indiquées dans chaque essai. La concentration est de l'ordre de 20-
699 50 g/L, mais elle peut être plus faible (10 g/L, par exemple) ou plus élevée (100 g/L, voire plus dans
700 des cas exceptionnels). La quantité de solution S préparée doit suffire pour effectuer chacun des
701 essais auxquels elle est destinée. Il convient de l'adapter, si nécessaire, lorsque le texte est révisé.
702 Si la solution S doit être filtrée, il est souhaitable de tenir compte de la perte intervenant lors de la
703 filtration, et quand la partie insoluble ainsi séparée doit servir pour un autre essai, cela est clairement
704 précisé.

705 Bien qu'elle soit possible, l'utilisation d'une même prise d'essai de solution S pour plusieurs essais
706 est à éviter, sauf dans les cas où il paraît souhaitable d'économiser la substance (coût élevé ou
707 substance soumise à des restrictions); cette latitude est alors clairement indiquée dans la
708 monographie.

709 Selon les essais, la concentration de la solution S est définie avec un degré d'exactitude variable :

- 710 • pour les essais « Aspect de la solution », « pH » et certaines identifications, une exactitude
- 711 de 5-10 % est suffisante,
- 712 • pour la plupart des essais limites, une exactitude de l'ordre de 2 % convient,
- 713 • pour certains essais, tels que la détermination du pouvoir rotatoire spécifique, de
- 714 l'absorbance spécifique ou de divers indices chimiques, et plus généralement pour les
- 715 essais dont le résultat est obtenu par calcul, un degré d'exactitude supérieur est nécessaire.

716
717 L'exactitude avec laquelle est définie la concentration de la solution S est celle requise par l'essai
718 le plus contraignant. La description de la préparation de la solution S doit donc inclure :

- 719 • la quantité de substance à examiner, avec l'exactitude requise (voir *Prescriptions*
- 720 *générales*),
- 721 • le volume, avec une décimale (10,0 mL, 25,0 mL, etc.) lorsque la concentration doit être
- 722 connue à moins de 1 % près, sans décimale (10 mL, 25 mL, etc.) lorsqu'une exactitude
- 723 moindre est suffisante.

724

725 II.7.4. Aspect de la solution

726 Cet essai permet d'apprécier la pureté générale d'une substance par la détection d'impuretés
727 insolubles dans le solvant choisi ou par celle d'impuretés colorées.

728 Il est presque systématiquement prescrit pour les substances destinées aux préparations pour usage
729 parentéral. En dehors de ce cas, il n'est à utiliser que s'il apporte des indications utiles sur des
730 impuretés spécifiques.

731 Il peut comporter l'un et/ou l'autre des deux essais suivants :

- 732 • *Limpidité et degré d'opalescence des liquides (2.2.1),*
- 733 • *Degré de coloration des liquides (2.2.2).*

734

735 Ces deux essais sont presque toujours effectués sur des solutions identiques, généralement la
736 solution S, mais peuvent aussi être réalisés sur des solutions différentes.

737 Le solvant utilisé est généralement de l'eau, mais le recours à d'autres solvants est possible, selon
738 la solubilité de la substance à examiner.

739 Lorsqu'un solvant organique est utilisé pour préparer la solution S, il peut être nécessaire de
740 s'assurer qu'il satisfait lui-même à l'essai, surtout lorsque l'exigence appliquée est très stricte.

741 L'essai est d'autant plus strict que la solution est concentrée. Pour les substances très pures ou
742 utilisées à dose élevée, la concentration choisie est de 50-100 g/L, alors que pour les substances
743 moins pures ou administrées à faible dose, la concentration retenue est de 10-20 g/L.

744 *II.7.4.1. Limpidité et degré d'opalescence (2.2.1)*

745 Cet essai est principalement effectué pour les substances incolores ou donnant des solutions
746 faiblement colorées, afin de permettre une bonne comparaison avec les suspensions témoins. Les
747 instruments modernes à mode ratio sont capables de mesurer des substances colorées.

748 La quantité de solution nécessaire dépend du diamètre des tubes utilisés ; elle varie de 7 mL à 20 mL
749 pour les tubes d'un diamètre de 15-25 mm prescrits dans le chapitre général. C'est donc ce dernier
750 volume qu'il faut prendre en compte.

751 Le plus souvent, la solution examinée doit être « limpide » (au sens de la Ph. Eur.). Dans certains
752 cas cependant (pour des substances non destinées à être utilisées en solution, par exemple), une
753 opalescence plus marquée peut parfois être tolérée.

754 *II.7.4.2. Degré de coloration des liquides (2.2.2)*

755 Cet essai s'applique aux substances elles-mêmes incolores, mais susceptibles de contenir, ou de
756 former par dégradation, des impuretés colorées qu'il est possible de contrôler en appliquant une
757 limite de coloration de la solution. Trois procédés sont décrits dans le chapitre général 2.2.2 *Degré*
758 *de coloration des liquides* :

- 759 • le Procédé I nécessite l'emploi de 2 mL de solution seulement, mais il est rarement
760 prescrit, sauf pour des substances donnant des solutions très colorées,

- 761 • le Procédé II, plus discriminant et donc plus fréquemment utilisé, nécessite l'emploi d'un
- 762 volume de solution plus important, identique à celui de l'essai de limpidité,
- 763 • le Procédé III décrit la détermination instrumentale de la coloration et fournit des données
- 764 plus objectives que l'observation visuelle subjective des couleurs par un petit nombre
- 765 d'individus.

766

767 Les résultats obtenus par ces trois procédés ne sont pas nécessairement identiques ; celui à utiliser
768 doit donc être indiqué dans la monographie.

769 Actuellement, les spécifications figurant dans la Ph. Eur. sont toutes basées sur une détermination
770 visuelle, et il n'est pas toujours possible d'obtenir une corrélation exacte entre résultats visuels et
771 résultats instrumentaux, selon la capacité de l'analyste à faire la différence entre les nuances
772 (méthode visuelle) et les réglages de l'équipement. Il est ainsi demandé à l'analyste, lorsqu'il ou
773 elle utilise le chapitre général 2.2.2, d'enregistrer les résultats obtenus en précisant le procédé utilisé
774 (I, II ou III).

775 La solution est décrite comme incolore lorsqu'elle est moins colorée que la solution témoin B₉.
776 Lorsqu'elle est légèrement colorée, elle est comparée à la solution témoin appropriée. Lorsque la
777 nuance de coloration varie selon les échantillons, il est possible de mentionner deux solutions
778 témoins (ou plus) de même degré de coloration, voire seulement le degré de coloration, sans
779 spécifier la couleur réelle.

780 Pour les substances destinées à un usage parentéral ou pour les solutions fortement colorées,
781 notamment lorsque l'emploi du Procédé I est envisagé, il est préférable d'indiquer une limite
782 d'absorbance, mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde appropriée
783 (généralement 400-450 nm). La concentration de la solution et la limite d'absorbance doivent être
784 précisées. Les conditions et la limite doivent être établies sur la base de la courbe d'absorbance
785 entre 400 nm et 450 nm et des résultats obtenus avec des échantillons appropriés, y compris des
786 échantillons examinés après conservation ou dégradation, si nécessaire.

787 II.7.5. pH et Acidité/alcalinité

788 Cet essai permet de limiter les impuretés acides ou alcalines dues à la méthode de préparation ou de
789 purification employée ou résultant de la dégradation de la substance (conditions de conservation
790 inadéquates, par exemple). Il peut également servir à vérifier la composition stœchiométrique de
791 certains sels.

792 Deux types d'essais sont utilisés dans la Ph. Eur. pour les impuretés protéolytiques : un titrage semi-
793 quantitatif utilisant des indicateurs colorés ou des mesures électrométriques pour définir des limites
794 (essai d'acidité/alcalinité) ou une détermination du pH.

795 La détermination du pH est à retenir si la substance possède un pouvoir tampon ; dans le cas
796 contraire, il est recommandé d'employer une procédure titrimétrique.

797 Le choix entre l'essai d'acidité/alcalinité et la détermination du pH peut être effectué sur la base
798 d'une estimation du pouvoir tampon de la substance. À cette fin, une courbe de titrage peut être
799 établie à partir d'une solution aqueuse (ou, si besoin est, d'un extrait) à la concentration prévue (10-
800 50 g/L) d'un échantillon, de préférence pur, de la substance à examiner, en utilisant respectivement
801 de l'acide chlorhydrique 0,01 M et de l'hydroxyde de sodium 0,01 M et en mesurant le pH par
802 potentiométrie.

803 Le point d'inflexion de la courbe de titrage représente le pH réel de la solution ; il se trouve, pour
 804 une substance pure, au point d'intersection avec l'axe des pH. Le pouvoir tampon de la solution à
 805 examiner est donné par le déplacement total du pH, ΔpH , lu sur la courbe de titrage après addition
 806 d'une part de 0,25 mL d'hydroxyde de sodium 0,01 M à 10 mL de la solution et d'autre part de
 807 0,25 mL d'acide chlorhydrique 0,01 M à 10 mL de la même solution. Le pouvoir tampon est
 808 inversement proportionnel à ΔpH . Pour un échantillon non totalement pur, effectuez une translation
 809 de la courbe de titrage, de façon à amener le pH réel de la solution sur l'axe des pH, avant de procéder
 810 à la lecture de ΔpH .

811 Le choix de la méthode à utiliser pour limiter les impuretés protéolytiques est déterminé par l'ordre
 812 de grandeur de ΔpH pour la solution examinée, selon le schéma suivant. La classification adoptée
 813 repose sur le fait que le virage de la plupart des indicateurs colorés intervient sur un intervalle de
 814 2 unités pH.

Classe A	$\Delta\text{pH} > 4$	Essai d'acidité/alcalinité avec deux indicateurs appropriés
Classe B	$4 > \Delta\text{pH} > 2$	Essai d'acidité/alcalinité avec un seul indicateur approprié
Classe C	$2 > \Delta\text{pH} > 0,2$	Détermination directe du pH
Classe D	$\Delta\text{pH} < 0,2$	La pureté protéolytique ne peut pas être raisonnablement contrôlée. Les sels composés d'ions possédant plusieurs fonctions basiques et/ou acides appartiennent à cette classe et, pour eux, une détermination du pH peut contribuer à vérifier la composition si les limites sont suffisamment étroites.

815

816 Il est évident que le fait de changer la concentration de la solution à examiner peut, dans une certaine
 817 mesure, modifier la classification de la substance considérée dans l'une ou l'autre des classes de
 818 pouvoir tampon définies plus haut, puisque la forme de la courbe de titrage s'en trouvera également
 819 modifiée. Il convient toutefois de ne pas dépasser l'intervalle de concentration indiqué ci-dessus,
 820 sauf si la faible solubilité de la substance dans l'eau impose l'utilisation d'une solution plus diluée.

821 S'il est impossible d'effectuer un essai d'acidité/alcalinité au moyen d'indicateurs, en raison de la
 822 coloration de la solution à examiner ou d'autres complications, les limites sont contrôlées par
 823 électrométrie. D'autre part, si l'addition d'un acide ou d'une base provoque une décomposition ou
 824 une précipitation de la substance à examiner, il peut être nécessaire de prescrire une détermination
 825 du pH quel que soit le pouvoir tampon.

826 Si, pour les raisons mentionnées ci-dessus, une détermination du pH doit être prescrite pour des
 827 solutions dont le pouvoir tampon est faible ou nul, la solution à examiner est préparée avec de l'eau
 828 exempte de dioxyde de carbone R. Il n'est, par contre, pas nécessaire d'employer de l'eau exempte
 829 de dioxyde de carbone R lors de la préparation de solutions dont le pouvoir tampon est suffisant
 830 pour permettre une détermination directe du pH, car l'exactitude requise, qui dépasse rarement 1/10
 831 d'unité pH, ne s'en trouvera pas affectée. Lorsque, pour exprimer une exigence d'acidité, il est
 832 spécifié que le volume d'hydroxyde de sodium 0,01 M requis n'excède pas 0,1 mL pour 10 mL de
 833 solution à examiner, la solution doit être préparée avec de l'eau exempte de dioxyde de carbone R.
 834 Lorsque la solution S doit être utilisée dans un essai de pureté protéolytique, il convient de tenir
 835 compte de ces considérations en prescrivant sa composition.

836 II.7.6. Pouvoir rotatoire (2.2.7)

837 Les mesures du pouvoir rotatoire d'un article, même si elles s'avèrent parfois utiles pour
838 l'identification, peuvent être utilisées comme essai de pureté :

- 839 • soit pour apprécier globalement la pureté d'une substance optiquement active (liquide ou
840 solide en solution), en calculant le « Pouvoir rotatoire spécifique » (titre de l'essai),
- 841 • soit pour limiter la présence des impuretés optiquement actives dans un mélange
842 « optiquement inactif » (racémate), à condition que le pouvoir rotatoire spécifique de
843 l'énantiomère à 589 nm soit suffisant pour assurer une sensibilité satisfaisante. Dans ce
844 cas, le pouvoir rotatoire du liquide ou du solide en solution est mesuré dans des conditions
845 (température, concentration, parcours optique) définies et l'intervalle normalement
846 spécifié est alors de $-0,10^\circ$ à $+0,10^\circ$ (pour couvrir les substances qui ne sont pas de vrais
847 racémates).

848
849 Dans les monographies portant sur un seul énantiomère actif (eutomère), la chromatographie chirale
850 (« Pureté énantiomérique ») est privilégiée pour contrôler l'autre énantiomère (distomère), car le
851 pouvoir rotatoire spécifique n'est généralement pas assez spécifique pour en permettre un contrôle
852 approprié. Par ailleurs, une procédure chromatographique achirale peut, en général, être utilisée
853 pour rechercher les diastéréoisomères.

854 Bien que l'essai ne soit pas applicable aux solutions fortement colorées ou opalescentes, une
855 filtration peut parfois rendre la détermination possible pour les solutions opalescentes. Raccourcir
856 le parcours optique peut également aider à mesurer des échantillons particuliers (pour certaines
857 huiles essentielles, par exemple).

858 Il convient de prendre en compte les paramètres suivants, dans la description de l'essai :

- 859 • la nature du solvant, qui dépend de la solubilité de la substance à examiner et de son
860 pouvoir rotatoire dans ce solvant. Il peut être nécessaire de définir avec soin la pureté et surtout
861 la teneur en eau des solvants non aqueux ;
- 862 • la quantité de substance à utiliser, déterminée avec une exactitude suffisante (en général,
863 1 %) et le volume à préparer (indiqué avec une décimale). Bien que le volume de solution
864 dépende de l'appareil utilisé, comme il n'excède généralement pas 25,0 mL, c'est ce
865 volume qui est habituellement prescrit. La concentration de la solution doit être assez
866 élevée pour permettre une lecture fiable de l'angle de rotation ;
- 867 • le degré d'hydratation ou de solvation organique de la substance (pour calculer le
868 résultat) ;
- 869 • le résultat est la moyenne d'au moins cinq mesures effectuées, dans le cas d'une
870 détermination visuelle, avec un instrument permettant la lecture à $0,01^\circ$ près ;
- 871 • les valeurs mesurées de l'angle de rotation optique sont indiquées avec deux décimales ;
- 872 • les valeurs du pouvoir rotatoire spécifique sont indiquées avec deux ou trois chiffres
873 significatifs : deux pour les valeurs inférieures à 10 et trois pour les valeurs supérieures ou
874 égales à 10 ;
- 875 • la limite de composition des racémates.

876
877 La valeur du pouvoir rotatoire spécifique est calculée par rapport à la substance desséchée ou
878 anhydre.

879 II.7.7. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25)

880 L'absorption du rayonnement électromagnétique peut être utilisée pour les essais de pureté, dans le
881 cadre d'essais limites portant sur certaines impuretés. Le cas type est celui des impuretés qui
882 absorbent le rayonnement dans un domaine où la substance à examiner est transparente, auquel cas
883 l'absorbance d'une solution de la substance à examiner est mesurée. Cet essai peut être effectué :

- 884 • par mesure directe sur la solution ; une absorbance maximale à une longueur d'onde
885 donnée ou sur un intervalle de longueurs d'onde donné est alors prescrite ;
- 886 • après une réaction chimique conduisant à la formation, à partir de l'impureté, d'un produit
887 de réaction absorbant à une longueur d'onde où la substance à examiner est transparente ;
888 une absorbance maximale à cette longueur d'onde est alors prescrite.

889 Pour les mesures dans le domaine UV, il est conseillé d'éviter d'effectuer les mesures à des
890 longueurs d'onde inférieures à 230 nm, car on observe davantage d'interférences et de phénomènes
891 optiques parasites dans ce domaine.
892

893 Il est important de décrire précisément les conditions opératoires, en particulier la préparation des
894 solutions obtenues par dilutions successives.

895 II.7.8. Substances apparentées

896 La politique suivie en matière de contrôle des impuretés est décrite dans le chapitre général
897 5.10. *Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique* et dans la
898 monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*. Il convient d'élaborer les
899 monographies conformément à cette politique. Elles ont pour vocation de couvrir les substances
900 entrant dans la composition de médicaments approuvés dans les États membres et sont censées
901 permettre un contrôle approprié de toutes les impuretés présentes dans ces substances, sous réserve
902 que les informations et échantillons (substance et impuretés) requis puissent être obtenus auprès des
903 fabricants. Ces impuretés sont contrôlées par un essai des substances apparentées et par tout autre
904 essai relatif à une impureté individuelle (« Impureté X » ou « Pureté énantiomérique », par
905 exemple). Si, pour une voie de synthèse donnée, les informations et échantillons requis ne sont pas
906 disponibles, la monographie risque de ne pas couvrir le profil d'impuretés correspondant.

907 Sauf indication contraire, les dispositions relatives aux substances apparentées figurant dans la
908 monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)* et dans le chapitre
909 général 5.10 s'appliquent à toutes les substances actives et à tous les excipients.

910 Si une exception doit être faite pour une substance donnée normalement couverte par ces exigences,
911 la mention suivante figure dans la monographie spécifique : « *Les seuils indiqués sous Substances
912 apparentées (tableau 2034.-1) dans la monographie générale Substances pour usage
913 pharmaceutique (2034) ne s'appliquent pas* ». Il est recommandé de préciser le motif de cette
914 exception, au stade *Pharmeuropa*, en note de bas de page. Après publication de la monographie
915 dans la Ph. Eur., l'explication sera transférée dans la base de données Knowledge de l'EDQM.

916 Les monographies doivent normalement spécifier des critères d'acceptation pour :

- 917 • chaque impureté spécifiée,
- 918 • les impuretés non spécifiées (auparavant regroupées sous l'appellation « toute autre
919 impureté »), auxquelles est généralement appliqué un critère d'acceptation qui correspond

- 920 au seuil d'identification,
 921 • les impuretés totales (sous l'appellation « total »).

922
 923 Les impuretés à contrôler comprennent les intermédiaires et les sous-produits de synthèse, les
 924 substances coextraites dans les produits d'origine naturelle et les produits de dégradation. Les
 925 monographies de substances chimiques organiques comportent généralement un essai intitulé
 926 « Substances apparentées » (ou un essai assurant une fonction similaire, mais sous un titre différent),
 927 dont l'objectif est d'assurer le contrôle des impuretés organiques. Le cas échéant, les impuretés
 928 inorganiques sont généralement couvertes par d'autres essais. Les solvants résiduels font l'objet de
 929 dispositions spécifiques (voir ci-dessous, ainsi que dans le chapitre général 5.4. *Contrôle des*
 930 *solvants résiduels* et dans la monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*).

931 **Impuretés (mutagènes) susceptibles d'altérer l'ADN.**

932 Le *guideline* ICH M7, *Guideline on assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities*
 933 *in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk* (EMA/CHMP/ICH/83812/2013), est entré
 934 en vigueur le 1^{er} janvier 2016.

935 L'approche pragmatique suivante est conforme au *guideline* ICH M7 ; il est recommandé de la
 936 suivre pour l'élaboration ou la révision de monographies couvrant des substances pour usage
 937 humain. Une impureté susceptible d'altérer l'ADN est couverte par la monographie spécifique
 938 **uniquement** lorsque des résultats d'étude démontrent la mutagénicité de l'impureté par un essai de
 939 toxicité reconnu. L'existence d'alertes structurales n'est pas jugée suffisante à elle seule pour
 940 déclencher des mesures de suivi. Sur décision de la Commission européenne de Pharmacopée
 941 (Novembre 2016), le cas des impuretés susceptibles d'altérer l'ADN est traité dans les monographies
 942 spécifiques, dans :

- 943 - la section PRODUCTION, sous la forme d'une mention, lorsque le GdE n'a connaissance d'aucun
 944 essai spécifique ni d'aucune limite au moment de l'élaboration ou de la révision d'une
 945 monographie ou lorsque la technique est tellement spéciale qu'elle n'est pas disponible à une
 946 majorité d'utilisateurs·trices ;
- 947 - la section ESSAI, lorsque la procédure analytique et la limite sont connues et lorsque la technique
 948 est courante.

949 Des informations et exigences complémentaires relatives à des types spécifiques d'impuretés
 950 susceptibles d'altérer l'ADN peuvent figurer dans la monographie générale *Substances pour usage*
 951 *pharmaceutique (2034)*.

952 Dans le cas d'une nouvelle voie de synthèse risquant d'entraîner la présence d'impuretés
 953 susceptibles d'altérer l'ADN ou d'impuretés précédemment reconnues présentes à une teneur
 954 supérieure, il convient de se fonder sur l'évaluation réalisée par une Autorité compétente pour
 955 l'impureté en question.

956 Si une Autorité compétente soulève une question concernant une impureté susceptible d'altérer
 957 l'ADN (notamment dans le cadre de la révision d'une monographie ou dans un commentaire sur
 958 un projet de texte paru dans *Pharmeuropa*), cette question est traitée sur la base des données
 959 fournies à la Commission européenne de Pharmacopée par l'Autorité compétente.

960
 961 **Contrôle des impuretés.** La CL est la méthode la plus courante et celle qui est recommandée pour

962 le contrôle des impuretés organiques. La CPG ou l'électrophorèse capillaire (EC) peuvent cependant
963 lui être préférées, dans certains cas. Bien que certaines monographies prescrivent encore la CCM,
964 il convient de réserver cette technique au contrôle d'impuretés spécifiques pouvant difficilement
965 être contrôlées par CL ou par CPG. Les essais par CCM qui ne sont pas conformes à cette
966 recommandation seront progressivement remplacés, à mesure que des informations concernant des
967 essais par CL ou par CPG appropriés seront obtenues.

968 Lorsque le contre-ion d'une substance active est formé à partir d'un acide organique de rang
969 inférieur, il n'est habituellement pas nécessaire de décrire un essai des substances apparentées pour
970 le composant organique de la molécule (le lactate de magnésium utilisé comme source de
971 magnésium, par exemple).

972 Il est fréquent qu'une monographie doive être conçue de façon à couvrir différents profils
973 d'impuretés, en raison de la multiplicité des voies de synthèse et des procédures de purification
974 utilisées par les fabricants. La pratique usuelle est alors de décrire un essai par CL de portée
975 générale, complété si nécessaire par d'autres essais (CL, CPG, EC, CCM ou autres techniques)
976 visant des impuretés spécifiques. Il s'avère toutefois de plus en plus compliqué de mettre au
977 point un essai de portée générale simple, dans certains cas ; un ou plusieurs essais généraux,
978 dont l'objet est défini dans l'essai même, sont alors inclus dans le texte, avec un renvoi à la
979 section IMPURETES.

980 Les monographies couvrent un certain nombre d'impuretés spécifiées, répertoriées dans la section
981 IMPURETES. Le terme « impuretés spécifiées » désigne les impuretés qui sont présentes dans les lots
982 actuels de substances entrant dans la composition de médicaments approuvés et auxquelles est
983 associé un critère d'acceptation individuel. Chaque fois que possible, les monographies indiquent
984 également des critères d'acceptation pour d'autres impuretés (au seuil d'identification applicable
985 à la substance) et une limite de teneur totale en impuretés (ou de teneur totale en impuretés autres
986 que certaines impuretés spécifiées, explicitement identifiées) présentes à une teneur supérieure au
987 seuil de déclaration. Le critère d'acceptation des impuretés spécifiées peut correspondre au seuil
988 d'identification applicable à la substance.

989 Les critères d'acceptation des impuretés spécifiées doivent tenir compte à la fois :

- 990
- des limites approuvées ;
 - des données de lot et de stabilité récentes, les critères d'acceptation étant définis de manière à tenir compte des conditions de production de routine ; ces données sont fournies par le fabricant pour des lots types et font l'objet d'une vérification expérimentale dans le cadre de l'élaboration de la monographie sur au moins trois lots.
- 994

996 Si plusieurs limites existent, on prend la limite supérieure.

997 Sauf indication contraire, lorsqu'une monographie décrit le sel de la substance, on suppose, aux fins
998 du calcul et de la définition des spécifications, que l'impureté est présente sous la même forme dans
999 l'échantillon.

1000 Il convient de prendre l'ensemble des décisions relatives aux critères d'acceptation applicables aux
1001 impuretés sur la base de la teneur effective de ces impuretés (c'est-à-dire après application des
1002 facteurs de correction [FC], s'il y a lieu) dans les lots représentatifs examinés.

1003 Il convient de spécifier et de localiser toute impureté de façon appropriée dans le chromatogramme,
1004 si elle a été observée dans les lots à une teneur :

- 1005 • supérieure à la limite applicable aux impuretés non spécifiées avant correction, et inférieure
 1006 à cette limite après correction (surestimation, $FC < 1$), ou
 1007 • inférieure à la limite applicable aux impuretés non spécifiées avant correction, et
 1008 supérieure à cette limite après correction (sous-estimation, $FC > 1$).

1009

1010 Il n'est habituellement pas indiqué de facteur de correction pour une impureté si elle a été observée,
 1011 dans les lots, à une teneur inférieure à la limite applicable aux impuretés non spécifiées avant
 1012 correction et inférieure au seuil de déclaration (limite d'exclusion) après correction.

1013 Quoiqu'il en soit, le FC n'est pas indiqué dans la monographie s'il est compris entre 0,8 et 1,25 (ce
 1014 qui correspond à un facteur de réponse de 1,2-0,8). Voir partie II.7.8.2.b pour en savoir plus sur
 1015 l'indication des FC.

1016 **Facteurs de réponse et de correction.** Selon le chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation*
 1017 *chromatographique*, le facteur de réponse relatif d'un détecteur (communément appelé « facteur de
 1018 réponse ») exprime la sensibilité de ce détecteur pour une substance donnée, par rapport à une
 1019 substance de référence. Le facteur de correction indiqué dans les monographies est l'inverse du
 1020 facteur de réponse.

1021 On peut déterminer le facteur de réponse en préparant des solutions de concentration définie de
 1022 l'impureté et de la substance à examiner et en effectuant leur analyse par CL-UV à une longueur
 1023 d'onde et à un débit donnés. Il est recommandé que la concentration de l'impureté et celle de la
 1024 substance à examiner soient de même ordre de grandeur, et il convient d'effectuer la mesure en
 1025 établissant une courbe d'étalonnage pour plusieurs points encadrant la concentration qui correspond
 1026 aux critères d'acceptation de l'impureté. On peut utiliser, pour le calcul, la moyenne du rapport
 1027 entre les surfaces de pics sur l'ensemble de l'intervalle de linéarité ou le rapport des pentes des
 1028 droites de régression respectives des deux substances. Le facteur de réponse peut être calculé à
 1029 l'aide de la formule suivante :

$$1030 \quad RRF = \frac{A_i}{A_s} \times \frac{C_s}{C_i}$$

1031 RRF = facteur de réponse (relatif),

1032 A_i = surface du pic dû à l'impureté,

1033 A_s = surface du pic dû à la substance à examiner dans le chromatogramme obtenu avec la solution
 1034 à examiner,

1035 C_s = concentration de la substance à examiner, en milligrammes par millilitre,

1036 C_i = concentration de l'impureté, en milligrammes par millilitre.

1037 Il est également important de prendre en considération la forme (base/acide ou sel) sous laquelle se
 1038 présentent l'impureté et la substance à examiner utilisées lors de la détermination du facteur de
 1039 réponse et d'appliquer un facteur de correction supplémentaire, reflétant le rapport des masses
 1040 moléculaires, si elles se présentent sous des formes différentes. Il est possible de procéder à cette
 1041 correction en veillant à ce que C_i soit exprimé sous la même forme que la substance à examiner
 1042 (base/acide ou sel), à condition que l'impureté puisse être présente sous cette forme.

1043 La détermination du facteur de réponse doit, de préférence, être effectuée par deux laboratoires
 1044 utilisant le même protocole. Il peut également être envisagé, pour cette mesure, d'utiliser différents

1045 types de détecteurs UV-Vis (détecteur à barrette de diodes ou à longueur d'onde variable).

1046 Il convient de corriger les valeurs de pesée de l'impureté et de la substance à examiner pour tenir
 1047 compte de leur pureté respective. Si la quantité d'impureté disponible ne permet pas une
 1048 détermination expérimentale, il est admis d'utiliser les valeurs indiquées sur le certificat d'analyse.
 1049 Si la quantité de substance à examiner et d'impureté disponible est suffisante, il convient de
 1050 déterminer au préalable leur pureté chromatographique et leur teneur en eau/solvants. Une valeur
 1051 provisoire peut alors être assignée sur la base de la formule suivantes:

$$1052 \quad teneur(\%) = [100 - (eau + solvants)] \times \frac{pureté\ chromatographique\ (\%)}{100}$$

1053 où la pureté chromatographique est déterminée par normalisation ou à l'aide d'une dilution de la
 1054 solution à examiner ou d'une solution de l'impureté.

1055 Lorsque l'impureté n'est disponible qu'en faible quantité, il peut être préférable d'appliquer des
 1056 procédures analytiques avec de faibles prises d'essai (analyse thermogravimétrique pour la teneur
 1057 en eau/solvants, coulométrie pour l'eau et CL pour estimer la pureté en injectant une solution
 1058 concentrée de l'impureté). Il est également possible d'utiliser d'autres approches telles que la
 1059 combinaison de la RMN quantitative et de données de CL, ou une comparaison entre la CL-UV et
 1060 la CL-CAD.

1061 **Méthodes séparatives.** Dans le cadre de la pharmacopée, l'objectif des essais de pureté effectués
 1062 par une méthode séparative est habituellement de contrôler les impuretés dérivant des différents
 1063 procédés de fabrication et processus de dégradation connus. Cependant, les conditions
 1064 expérimentales, notamment le système de détection utilisé, sont choisies spécifiquement de manière
 1065 à ne pas réduire excessivement la portée de l'essai. Les essais de pureté effectués par
 1066 chromatographie constituent souvent le meilleur moyen de mettre globalement en évidence les
 1067 impuretés organiques dérivant de nouveaux procédés de fabrication ou d'une contamination
 1068 accidentelle. Il peut être intéressant de compléter un essai chromatographique par d'autres essais,
 1069 chromatographiques ou autres.

1070 Comme mentionné dans la partie II.6.8, un système chromatographique utilisé pour les essais de
 1071 pureté peut, s'il est approprié, également servir à l'identification.

1072 Lorsqu'un essai des substances apparentées utilisant une technique chromatographique est
 1073 effectué, un chromatogramme représentatif est publié dans *Pharmeuropa* en même temps que la
 1074 monographie. Même si ce chromatogramme ne sera jamais publié dans la Ph. Eur., il sera transféré
 1075 dans la base de données Knowledge de l'EDQM.

1076 Lorsqu'un mélange d'impuretés contenant ou ne contenant pas la substance à examiner est utilisé
 1077 comme substance de référence (pour identification des pics SCR, mélange d'impuretés SCR ou
 1078 pour conformité du système SCR, par exemple), un chromatogramme représentatif est fourni avec
 1079 la substance de référence disponible s'il est mentionné dans la monographie.

1080 Il convient d'indiquer, dans les monographies, un moyen fiable de situer, dans le chromatogramme,
 1081 les impuretés utilisées pour l'essai de conformité du système et toutes les impuretés spécifiées. Il
 1082 est nécessaire d'identifier les impuretés présentes à une teneur inférieure ou égale à la limite
 1083 applicable aux impuretés non spécifiées, si un facteur de correction doit leur être appliqué. Dans ce
 1084 cas, ces impuretés sont répertoriées comme spécifiées.

1085 Les pics peuvent être identifiés à l'aide :

- 1086 • d'un étalon de référence ou d'un réactif pour chaque impureté,
- 1087 • d'un étalon de référence contenant tout ou partie des impuretés, (pour identification des
- 1088 pics SCR ou pour conformité du système SCR, par exemple).

1089
1090 L'identification des pics par leur rétention relative n'est, en général, pas jugée suffisante dans le
1091 cadre de la pharmacopée, particulièrement pour les systèmes à gradient d'élution. Lorsqu'un étalon
1092 de référence contenant une ou plusieurs impuretés, accompagnées ou non de la substance à
1093 examiner, doit être utilisé, il convient de fournir un échantillon de chaque impureté spécifiée à
1094 l'EDQM pour lui permettre d'établir cet étalon.

1095 En règle générale, la rétention relative est indiquée avec une décimale. Elle peut toutefois, si
1096 nécessaire, être indiquée avec deux décimales pour préciser l'ordre d'élution de pics très voisins.
1097 Les considérations générales suivantes s'appliquent à l'ensemble des techniques séparatives :

- 1098 • les concentrations/charges utilisées sont généralement élevées, car la symétrie du pic
- 1099 principal ou la forme de la tache ne constituent pas des facteurs critiques dans les essais
- 1100 de pureté, du moins en l'absence d'interférence. Lorsque l'on utilise un étalon externe aux
- 1101 fins de détermination quantitative, il n'est pas nécessaire que la réponse du pic principal
- 1102 du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner se situe dans l'intervalle de
- 1103 linéarité du détecteur,
- 1104 • dans un essai des substances apparentées de portée générale, la substance à examiner ne
- 1105 doit pas faire l'objet d'une modification chimique (dérivatisation, par exemple) avant
- 1106 réalisation de l'essai de pureté, en raison du risque de modification du profil d'impuretés,
- 1107 • de même, l'extraction de la base ou de l'acide libre avant réalisation de l'essai de pureté
- 1108 est à éviter,
- 1109 • le t_R du pic principal est déterminé à l'aide de la solution à examiner diluée (afin d'accroître
- 1110 l'exactitude, tout en évitant les effets de saturation).

1111 *II.7.8.1. Chromatographie sur couche mince (2.2.27) et chromatographie sur couche mince haute*

1112 *performance des drogues végétales et préparations à base de drogue végétale (2.8.25)*

1113 La CCM ne doit normalement être utilisée que pour contrôler une impureté spécifiée, lorsque ni la
1114 CL ni la CPG ni l'EC ne conviennent (en général, à cause de l'absence de système de détection
1115 approprié). Pour en savoir plus sur la CCMHP, consultez le *Guide pour l'élaboration des*
1116 *monographies de drogues végétales et préparations à la base de drogues végétales.*

1117 Les plaques préfabriquées disponibles dans le commerce décrites dans le chapitre 4.1.1. *Réactifs*
1118 doivent être utilisées ; la dénomination commerciale des plaques qui se sont avérées convenir
1119 pendant l'élaboration de la monographie est précisée en note de bas de page dans le projet de texte,
1120 avant d'être transférée dans la base de données Knowledge de l'EDQM, après son adoption. Outre
1121 les informations concernant la phase stationnaire utilisée (type de gel, type de liant), le chapitre
1122 général 4.1.1. *Réactifs* décrit une procédure de contrôle d'acceptabilité sous *plaque au gel de*
1123 *silice pour CCM R*. La monographie doit décrire le type de plaque à utiliser, dont la granulométrie
1124 pour les plaques CCMHP, et spécifier un critère de conformité du système. Il arrive souvent que les
1125 substances qui conviendraient le mieux pour l'essai de conformité du système soient difficiles à
1126 obtenir individuellement, auquel cas l'utilisation d'un échantillon de la substance à examiner les
1127 contenant comme contaminants, voire d'un échantillon délibérément dopé avec ces substances, peut
1128 être prescrite. Les ajustements admis pour les différents paramètres sont précisés dans le chapitre
1129 général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique.*

1130 Si la bonne réalisation de l'essai exige d'effectuer un prétraitement ou de réaliser la
1131 chromatographie dans des conditions de non-saturation, ces informations figurent dans le texte de
1132 la monographie. Ceci s'applique tout particulièrement aux plaques en phase inversée.

1133 L'utilisation d'une ou de plusieurs dilutions de la substance à examiner comme solutions témoins
1134 s'avère souvent adéquate, à condition que les impuretés sur lesquelles porte la comparaison
1135 présentent un comportement similaire dans les conditions chromatographiques choisies. Ceci
1136 suppose que les taches à comparer aient des R_F suffisamment proches pour que l'erreur due aux
1137 différences de diffusion des substances pendant leur migration ne soit pas trop importante. Dans le
1138 cas contraire, il convient d'employer des solutions témoins contenant les impuretés spécifiées. Il
1139 peut être nécessaire de demander à l'analyste de ne pas tenir compte d'une tache restant sur la ligne
1140 de départ – souvent due au contre-ion d'un sel, qui ne migre pas.

1141 La sommation des réponses correspondant aux différentes taches n'est acceptable que si l'emploi
1142 d'un équipement adéquat est prescrit. Il n'est pas recommandé de prescrire une ou plusieurs limites
1143 de concentration en impuretés sans spécifier de limite pour le nombre des impuretés, sous peine
1144 d'atteindre une teneur totale théorique en impuretés inacceptablement élevée. On peut contourner
1145 cette difficulté en introduisant au moins deux niveaux de limitation des impuretés et en autorisant
1146 la présence d'un nombre défini d'entre elles à la teneur la plus élevée et le reste sous la teneur la
1147 plus basse. Par exemple, l'essai peut spécifier qu'aucun contaminant ne peut dépasser une teneur
1148 relative de 1 % et qu'un seul contaminant peut dépasser 0,25 %, ou qu'aucun contaminant ne peut
1149 dépasser une teneur relative de 1 %, qu'un seul contaminant peut dépasser 0,5 % et qu'au maximum
1150 quatre contaminants peuvent dépasser 0,25 %.

1151 *II.7.8.2. Chromatographie liquide (2.2.29)*

1152 La définition d'un système chromatographique approprié constitue souvent l'un des problèmes
1153 majeurs à résoudre lors de l'élaboration d'un essai de pureté par chromatographie. Dans le cas de
1154 la CL, la situation est encore compliquée par l'existence de nombreuses variantes des phases
1155 stationnaires, particulièrement dans le cas des phases inversées chimiquement liées, où il existe des
1156 variations non seulement d'une marque à l'autre, mais parfois aussi d'un lot à l'autre, qui peuvent
1157 toutes influencer une séparation donnée. Une fois qu'un type de phase stationnaire s'est avéré
1158 donner une séparation satisfaisante, il doit être décrit à l'aide de l'entrée de réactif appropriée. Des
1159 tableaux de correspondance entre la dénomination commerciale des colonnes de CL et la description
1160 des phases stationnaires sont disponibles sur l'extranet, dans la section General Information for
1161 Experts. La taille des particules (μm) est indiquée dans la procédure analytique; pour la
1162 chromatographie d'exclusion, la taille des particules (μm) et celle des pores (nm) sont précisées. La
1163 dénomination commerciale de la ou des colonnes qui se sont avérées convenir pendant l'élaboration
1164 de la monographie est précisée en note de bas de page dans le projet de texte, avant d'être transférée
1165 dans la base de données Knowledge de l'EDQM, après son adoption.

1166 La description du système chromatographique comprend les informations suivantes : dimensions
1167 de la colonne (longueur et diamètre intérieur), nature de la phase stationnaire (comme détaillé plus
1168 haut), avec éventuellement étapes de préparation ou de prétraitement, composition et débit de la
1169 phase mobile, avec programme de gradient (le cas échéant), température de la colonne et de
1170 l'autoéchantillonneur (si elle diffère de la température ambiante et notamment si elle est
1171 thermostatée), méthode d'injection (si cette précision est importante), volume d'injection et
1172 méthode de détection.

Si l'usage d'une précolonne est jugé nécessaire durant l'élaboration de la monographie et si les données de validation ont été obtenues avec la précolonne, alors son usage est normalement mentionné dans la monographie.

Pour préparer la phase mobile, il est recommandé que l'analyste choisisse une qualité de solvant appropriée en fonction de la longueur d'onde de détection choisie. Les indications suivantes s'appliquent aux solvants les plus utilisés, le méthanol et l'acétonitrile. Si de l'eau entre dans la composition de la phase mobile, il convient d'utiliser de l'eau pour chromatographie R.

Intervalle de longueur d'onde	Qualité d'acétonitrile	Qualité de méthanol
$\lambda \geq 250$ nm	acétonitrile R	méthanol R
$220 \text{ nm} \leq \lambda < 250$ nm	acétonitrile pour chromatographie R	méthanol R1
$\lambda < 220$ nm	acétonitrile R1	méthanol R2

Les ajustements admis pour les différents paramètres sont précisés dans le chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique.*

Pour préparer la solution à examiner et les solutions témoins, il est souhaitable d'utiliser, chaque fois que possible, la phase mobile comme solvant, afin de limiter les anomalies des pics.

Contrairement aux solutions pour usage quantitatif, les quantités prescrites dans les solutions témoins pour usage exclusivement qualitatif sont décrites sans décimale supplémentaire.

Comme de nombreuses substances actives sont obtenues par différentes voies de synthèse, la liste des impuretés potentielles à limiter peut être longue et leur séparation constituer un véritable défi analytique. Pour des raisons de robustesse et de reproductibilité, il est préférable de choisir une élution isocratique lors du développement d'une procédure de pharmacopée. Cependant, la CL isocratique n'étant pas toujours suffisamment sélective, il est de plus en plus fréquent d'avoir à recourir à des méthodes à gradient.

Lorsqu'un système à gradient d'élution est décrit, tous les paramètres utiles doivent être clairement indiqués (composition des phases mobiles, conditions d'équilibre, conditions de gradient [linéaire ou par paliers], etc.). En règle générale, les modalités de retour aux conditions initiales et le rééquilibrage ne sont pas prescrits dans les monographies, car ils sont considérés comme spécifiques à l'instrument. Si ces informations sont jugées importantes (chromatographie à échange d'ions, par exemple), elles peuvent être indiquées en note de bas de page dans le projet de monographie, avant d'être transférées dans la base de données Knowledge de l'EDQM.

Pour un gradient d'élution en CL, il est important de tenir compte du volume mort compris entre la chambre de mélange des solvants et le sommet de la colonne. Ce volume, le volume de délai, est noté « D ». Il dépend de la configuration du système de pompage, et notamment des dimensions des capillaires, de la chambre de mélange des solvants et de la boucle d'injection. D'importantes différences de volume de délai entre systèmes de pompage entraînent des différences dans l'élution des pics. Son influence sur les temps de rétention affecte principalement les substances peu retenues. Il convient donc de prévoir une phase initiale isocratique dans les systèmes de gradient, pour faire en sorte que les substances à analyser ne soient pas éluées à proximité du pic d'injection et pouvoir ainsi pallier des différences marquées de volume de délai entre différents systèmes de pompage. La durée minimale de l'étape isocratique initiale dépend du volume de délai du système et permet l'équilibrage du système après injection de l'échantillon. Lorsque la validation initiale a été effectuée

sans étape isocratique initiale, il n'est pas toujours nécessaire de revalider une procédure à laquelle une étape isocratique a été ajoutée, si les substances à analyser ne sont pas éluées trop près du pic d'injection. Il est souhaitable que le volume de délai du système de pompage utilisé lors du développement de la procédure soit inférieur ou égal à 1,0 mL. Si la procédure est développée avec un système présentant un volume de délai supérieur à 1,0 mL, il est essentiel de prévoir une étape isocratique initiale appropriée. Il est important que les expert-es précisent, dans leurs rapports, le volume de délai de l'instrument utilisé dans le cadre de leurs travaux expérimentaux. Cette valeur sera indiquée en note de bas de page dans le projet de texte, puis dans la base de données Knowledge de l'EDQM, après adoption de la monographie. Le chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique* décrit une méthode de détermination du volume de délai.

II.7.8.2.a. Critères de conformité du système

Un ou plusieurs critères de conformité du système doivent figurer dans l'essai. Les exigences détaillées dans le chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique* sont également applicables.

Capacité de séparation. Ce critère est nécessaire dans tous les cas où une technique séparative est employée pour un dosage et pour un essai des substances apparentées. Différentes approches, détaillées ci-après, sont acceptables pour vérifier la conformité du système sous cet aspect ; elles reposent pour la plupart sur la séparation, ou sur la séparation partielle, d'un couple critique.

- **Résolution.** Elle est calculée pour deux pics voisins (couple critique) par la formule indiquée dans le chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique*. Lorsque le chromatogramme comporte plusieurs paires de pics voisins, il peut être utile d'utiliser plusieurs critères de résolution, en particulier dans les systèmes à gradient. Il convient que l'essai de résolution décrit permette de séparer, entre elles et par rapport au pic principal, toutes les impuretés contrôlées par la procédure (et pas uniquement le couple critique). Des pics de hauteur différente peuvent être utilisés pour calculer la résolution, à condition que le détecteur ne soit pas saturé.
- **Rapport pic/vallée.** Ce paramètre peut être employé lorsqu'il est impossible d'obtenir la séparation complète de deux pics adjacents (résolution inférieure à 1,5). Il convient que la valeur minimale spécifiée pour le rapport pic/vallée ne soit pas inférieure à 1,5. Une meilleure séparation est souvent nécessaire pour permettre l'intégration correcte des pics dus aux impuretés. Lorsque la composition quantitative d'un étalon de référence utilisé dans cet essai évolue (lot de remplacement), il est nécessaire de vérifier si les exigences de l'essai de conformité du système doivent être ajustées.

Lorsqu'un gradient d'élution est décrit, il est souhaitable de spécifier une exigence de conformité du système pour chaque étape critique du gradient.

Il est admis, pour établir la conformité du système, de recourir à une dégradation *in situ* (oxydation, hydrolyse, isomérisation *Z-E* ou cyclisation), à condition qu'une dégradation de la substance en solution soit possible dans des conditions de « stress » modéré et dans un délai raisonnablement court, et qu'elle donne des produits de décomposition dont les pics peuvent servir à déterminer une résolution ou un rapport pic/vallée. Il peut s'agir d'une alternative intéressante à l'utilisation d'étalons de référence d'impuretés.

Dans certains cas exceptionnels, un chromatogramme d'une substance impure ou, de préférence, « dopée » peut également être employé pour définir le système. Dans ce cas, un chromatogramme

1256 est généralement fourni avec la substance de référence (pour conformité du système ou pour
1257 identification des pics) ou l'identification des pics est décrite dans le texte de l'essai des substances
1258 apparentées (lorsqu'une seule impureté est à identifier, par exemple).

1259 L'emploi d'une substance dopée (ou impure) nécessite de pouvoir l'obtenir en quantité suffisante
1260 pour permettre l'établissement de la substance de référence utilisée et de la remplacer ultérieurement
1261 par une substance présentant les mêmes caractéristiques.

1262 Il convient de noter que l'indication des temps de rétention ou des rétentions relatives n'est donnée
1263 qu'à titre informatif et qu'elle ne peut être utilisée comme critère de conformité du système.

1264 **Sensibilité.** La limite d'exclusion/le seuil de déclaration a une double fonction :

- 1265 • critère permettant de décider s'il faut ou non comptabiliser la surface ou la surface corrigée
- 1266 d'un pic dans le total des impuretés,
- 1267 • critère général permettant de déterminer la conformité du système chromatographique
- 1268 effectivement utilisé aux exigences du chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation*
- 1269 *chromatographique* (rapport signal/bruit [S/N] ≥ 10 à la limite d'exclusion/au seuil de
- 1270 déclaration).

1271

1272 Dans le cas des substances couvertes par une monographie, la limite d'exclusion est généralement
1273 établie en fonction du seuil de déclaration indiqué dans le tableau 2034.-1 (voir *Substances pour*
1274 *usage pharmaceutique (2034)*). La limite d'exclusion n'est toutefois décrite que lorsque le style
1275 « comparatif » est utilisé dans l'essai des substances apparentées. Il convient de rédiger les nouvelles
1276 monographies et les monographies révisées en utilisant un style « quantitatif » et d'y inclure un seuil
1277 de déclaration, qui sert à compenser les différences de sensibilité liées à l'emploi de systèmes
1278 analytiques différents.

1279 Lorsque le procédé de normalisation est utilisé pour la quantification, l'essai comprend toujours un
1280 seuil de déclaration.

1281 Lorsque l'étalonnage externe est utilisé, si plusieurs impuretés sont limitées et qu'une limite est
1282 prescrite pour les impuretés totales, un seuil de déclaration est inclus dans l'essai. Lorsqu'une seule
1283 impureté est limitée, aucun seuil de déclaration n'est indiqué, mais, si la sensibilité est médiocre,
1284 un rapport S/N minimum peut être ajouté à la monographie.

1285 Pour les impuretés spécifiées auxquelles s'applique un FC $> 1,25$ (facteur de réponse $< 0,8$), il
1286 convient de s'assurer que le pic est quantifiable non seulement à la limite spécifiée, mais également
1287 jusqu'à la limite d'exclusion/jusqu'au seuil de déclaration, ce qui est important pour déterminer les
1288 impuretés totales. Il peut alors être nécessaire, si l'exigence générale (rapport S/N ≥ 10) n'est pas
1289 applicable, d'ajouter un critère de sensibilité spécifique (S/N) pour l'impureté en question.

1290 *Exemple : l'impureté X est spécifiée à 0,15 %, avec un facteur de correction de 5, et une limite*
1291 *d'exclusion/un seuil de déclaration de 0,05 %. La procédure est de sensibilité suffisante, pour*
1292 *l'impureté X considérée, si :*

- 1293 • (1) dans le cas où l'impureté X est disponible comme réactif/SCR et utilisée comme étalon
- 1294 externe, la condition S/N ≥ 10 est réalisée pour une solution de l'impureté X à 0,05 % (par
- 1295 rapport à la solution à examiner),
- 1296 • (2) dans le cas où l'impureté X n'est pas disponible, la condition S/N ≥ 50 (10 x 5 pour le
- 1297 facteur de correction) est réalisée pour une solution de la substance active à 0,05 %.

1298 L'option (2) est à privilégier lorsque l'impureté isolée n'est disponible qu'en faible quantité et que
 1299 le facteur de correction qui lui est applicable est compris entre 0,2 et 5. En dehors de cet intervalle,
 1300 il est préférable d'utiliser l'impureté comme étalon externe pour éviter l'incertitude supplémentaire
 1301 introduite par le facteur de multiplication. Dans le cas de l'option (2), comme le facteur de
 1302 correction applicable à l'impureté X est de 5 (facteur de réponse = 0,2) et qu'une dilution de la
 1303 solution à examiner est utilisée pour la quantification, il est recommandé de vérifier la sensibilité
 1304 de la procédure lors de sa validation. Pour que la quantification soit possible, il faut que le
 1305 rapport S/N du pic de l'impureté au seuil de déclaration soit supérieur ou égal à 10. Pour couvrir
 1306 les différences de sensibilité entre équipements, il convient de décrire, dans la monographie, un
 1307 rapport S/N minimum lorsque le rapport S/N observé pour le pic dû à l'impureté n'est pas supérieur
 1308 à 50 au seuil de déclaration. Le rapport S/N exigé dans la monographie doit être au moins égal à
 1309 10 fois le facteur de correction (pour un facteur de correction de 4, le rapport S/N exigé sera d'au
 1310 moins 40, par exemple).

1311 Exemple 1 : Rosuvastatine calcique : impureté C, facteur de correction 1,4 ; limite 0,8 % ; seuil de
 1312 déclaration : 0,05 %, quantification à l'aide d'une dilution à 0,2 % de la solution à examiner
 1313 (solution témoin (b)).

1314 → rapport S/N pour l'impureté C au seuil de déclaration : 55 (minimum 10 pour que le pic soit
 1315 quantifiable, mais il est souhaitable d'obtenir un rapport S/N d'au minimum 50 pour couvrir
 1316 les différences de sensibilité entre équipements),

1317 → rapport S/N du pic principal de la solution témoin (b) : 361, soit ≈ 90 au seuil de déclaration
 1318 de 0,05 % (exigence minimale au seuil de déclaration : $10 \times 1,4 [FC] = 14$).

1319 Conclusion : la procédure est très sensible, il n'est donc pas nécessaire de spécifier un rapport S/N
 1320 minimum dans la monographie.

1321

1322 Exemple 2 : Correctoprolol (cas théorique) : impureté A, facteur de correction : 2,2 ; limite :
 1323 0,2 % ; seuil de déclaration : 0,05 %, quantification à l'aide d'une dilution à 0,1 % de la solution
 1324 à examiner (solution témoin (b)).

1325 → rapport S/N pour l'impureté A au seuil de déclaration : 35 (minimum 10 pour que le pic soit
 1326 quantifiable, mais il est souhaitable d'obtenir un rapport S/N d'au minimum 50 pour couvrir
 1327 les différences de sensibilité entre équipements),

1328 → rapport S/N du pic principal de la solution témoin (b) : 154, soit 77 au seuil de déclaration
 1329 de 0,05 % (exigence minimale au seuil de déclaration : $10 \times 2,2 [FC] = 22$).

1330 Conclusion : au vu de ces résultats, la sensibilité est suffisante, mais il existe un risque que
 1331 l'exigence minimale ne soit pas satisfaite avec un équipement moins sensible ; il est donc
 1332 recommandé de spécifier, dans la monographie, un rapport S/N minimum de 44 pour la solution
 1333 témoin (b) (22×2 , car solution témoin (b) à 0,10 %).

1334 Pour les essais relatifs à des impuretés dont la teneur en ppm est limitée (impuretés susceptibles
 1335 d'altérer l'ADN, par exemple), l'essai de conformité du système peut inclure un rapport S/N
 1336 minimum de 10 à 50 % de la limite spécifiée pour les essais quantitatifs et de 10 à la limite spécifiée
 1337 pour les essais limites, par exemple.

1338 **Répétabilité.** En CL avec détection UV, il est communément accepté de spécifier une valeur
 1339 maximale de 5,0 % pour l'écart type relatif de la surface du pic, obtenu sur un minimum de trois
 1340 injections d'une solution témoin à 0,1 % (par rapport à la solution à examiner).

1341 II.7.8.2.b. Quantification

1342 Une quantification est nécessaire pour appliquer les limites relatives aux impuretés spécifiées, aux

1343 impuretés non spécifiées et aux impuretés totales. Elle est le plus souvent effectuée au moyen d'un
 1344 étalon externe, plus rarement par le procédé de normalisation. Le recours au procédé de normalisation
 1345 est déconseillé en raison des problèmes de linéarité susceptibles d'être observés.

1346 **Étalon externe.** Une dilution de la solution/substance à examiner est utilisée, sauf si la réponse du
 1347 détecteur présente un écart important pour une impureté spécifiée (ou, exceptionnellement, une
 1348 impureté non spécifiée), qui nécessite de recourir à un étalon externe spécifique. Celui-ci peut être
 1349 constitué par :

- 1350 • une solution de l'impureté, normalement sous la forme d'un étalon de référence (option à
 1351 privilégier),
- 1352 • à défaut, une solution de la substance à examiner contenant l'impureté à une teneur connue.

1353
 1354 Lorsqu'une dilution de la substance à examiner est utilisée comme étalon externe, il est
 1355 recommandé aux expert-es de déterminer les FC applicables aux impuretés ; ils ne seront indiqués
 1356 dans la monographie que s'ils se situent hors de l'intervalle 0,8-1,25 (facteur de réponse
 1357 correspondant hors de l'intervalle 0,8-1,2) et sont jugés pertinents au regard des résultats de lots
 1358 (voir partie II.7.8). Les FC sont normalement indiqués avec une seule décimale. La substance est
 1359 prise en compte dans son « intégralité » (entité active, contre-ion et solvate) (*Chlorhydrate de*
 1360 *donépézil monohydraté (3067)* : « *Calcul de la teneur pour cent : pour chaque impureté, utilisez la*
 1361 *concentration du chlorhydrate de donépézil monohydraté dans la solution témoin (a).* »).

1362 Il est recommandé de ne pas appliquer de FC inférieur à 0,2 ni supérieur à 5 aux impuretés
 1363 spécifiées, mais plutôt de recourir dans ce cas à des étalons externes, si possible.

1364 Pour tenir compte des différences de réponse, il est possible d'utiliser une longueur d'onde
 1365 différente de la longueur d'onde par défaut pour la détection d'impuretés particulières. Sauf
 1366 indication contraire, il est entendu que la solution à examiner et les solutions témoins sont
 1367 enregistrées à la même longueur d'onde.

1368 Les critères d'acceptation, dans l'essai des substances apparentées, peuvent être exprimés soit par
 1369 comparaison des surfaces de pics (style « comparatif » historique) soit par des valeurs numériques
 1370 (style « quantitatif », privilégié dans les nouveaux textes ou les révisions majeures).

1371 Conformément à la monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)* :

- 1372 • les monographies qui suivent l'approche comparative (critères d'acceptation exprimés par
 1373 comparaison des surfaces de pics) spécifient habituellement une *limite d'exclusion* par
 1374 comparaison à une dilution de la solution à examiner,
- 1375 • les monographies qui expriment les critères d'acceptation sous forme de valeurs
 1376 numériques définissent un *seuil de déclaration* (valeur numérique en pourcentage).

1378 **Procédé de normalisation.** La quantification par normalisation (des surfaces) exige d'avoir la
 1379 certitude que tous les solutés sont élués et détectés, de préférence avec des facteurs de réponse
 1380 uniformes, et que la réponse du détecteur est linéaire jusqu'à environ 120 % des concentrations
 1381 employées. Ces aspects doivent être validés.

1382 Comme indiqué dans le chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique*, les
 1383 pics dus aux solvants ou aux réactifs ou issus de la phase mobile ou de la matrice de l'échantillon,
 1384 ainsi que ceux dont la surface est inférieure ou égale au seuil de déclaration, sont exclus du calcul

1385 des teneurs pour cent par le procédé de normalisation. Une solution témoin supplémentaire est
1386 utilisée pour déterminer le seuil de déclaration. La valeur numérique correspondante (%) est
1387 indiquée dans la monographie.

1388 *II.7.8.3. Chromatographie en phase gazeuse (2.2.28)*

1389 Les difficultés rencontrées lors de la définition d'un système chromatographique approprié, dans le
1390 cadre des essais de pureté par CPG, sont comparables à celles mentionnées pour la CL
1391 (partie II.7.8.2), bien que pouvant concerner d'autres aspects. Les détails expérimentaux à décrire
1392 dans un essai de pharmacopée doivent donc également être formulés comme des exemples, pour
1393 qu'il soit possible de faire varier les paramètres chromatographiques afin d'atteindre les
1394 performances exigées. Une fois qu'un type de phase stationnaire s'est avéré donner une séparation
1395 satisfaisante, il doit être décrit à l'aide de l'entrée de réactif appropriée (4.1.1). Des tableaux de
1396 correspondance entre la dénomination commerciale des colonnes de CPG et la description des
1397 phases stationnaires sont disponibles sur l'extranet, dans la section General Information for Experts.
1398 L'épaisseur du film (μm , colonnes capillaires) ou la taille des particules (μm , colonnes remplies,
1399 dans les anciennes procédures) est précisée après le nom du réactif. La dénomination commerciale
1400 de la ou des colonnes qui se sont avérées convenir pendant l'élaboration de la monographie est
1401 précisée en note de bas de page dans le projet de texte, avant d'être transférée dans la base de
1402 données Knowledge de l'EDQM, après son adoption.

1403 Le système chromatographique doit être décrit, pour l'essentiel, de la même manière que pour la
1404 CL, avec les ajustements appropriés (programme de température [le cas échéant] au lieu du
1405 programme d'élution, température de la chambre à injection et du détecteur, etc.). Il convient
1406 d'éviter l'emploi de colonnes remplies. Les ajustements admis pour les différents paramètres sont
1407 précisés dans le chapitre général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique.*

1408 Pour des raisons de robustesse et de reproductibilité, il est préférable d'opérer dans des conditions
1409 isothermes. La quantification repose généralement sur l'utilisation d'un étalon interne ou du procédé
1410 de normalisation (des surfaces). Les limitations mentionnées pour la CL concernant la sommation
1411 des pics s'appliquent également pour la CPG.

1412 Les principes définis dans la partie II.7.8.2.b pour l'expression des critères d'acceptation dans le cas
1413 de la CL doivent également être appliqués.

1414 *II.7.8.4. Électrophorèse capillaire (2.2.47)*

1415 L'EC est de plus en plus utilisée pour séparer et contrôler les impuretés lorsqu'elles sont nombreuses
1416 et présentent d'importantes différences de polarité. Elle permet également de contrôler la teneur en
1417 l'énantiomère indésirable des substances thérapeutiques chirales. Lorsque la séparation est effectuée
1418 en capillaire de silice fondue, le problème de variabilité des performances en fonction de la phase
1419 stationnaire, rencontré en CL en phase inversée, est écarté.

1420 La détermination s'accompagne d'une production de chaleur par effet Joule. Pour obtenir une
1421 reproductibilité satisfaisante, il est nécessaire de maintenir une température constante à l'aide d'un
1422 thermostat ou, à défaut, d'opérer à basse tension.

1423 La limite de détection peut également poser problème du fait des très petits volumes injectés et de
1424 la brièveté de la fenêtre de détection dans le capillaire, même si l'on a recours à des techniques de
1425 tassement. Pour le contrôle des impuretés ou pour les dosages, il est recommandé d'utiliser un étalon
1426 interne pour obtenir la fidélité requise. Pour le reste, les principes à suivre sont similaires à ceux

1427 décrits plus haut pour la CL.

1428 En analyse chirale, un sélecteur chiral est ajouté au tampon d'électrophorèse. Il convient de le décrire
1429 soigneusement dans la monographie ou comme réactif, en particulier s'il s'agit d'un dérivé de la
1430 cyclodextrine. En effet, beaucoup de ces dérivés étant substitués de façon aléatoire, il est important
1431 d'indiquer le degré de substitution exact ou moyen, ainsi que le site de substitution. Lors de la
1432 validation de la procédure analytique, il est souhaitable d'utiliser plusieurs lots du dérivé de la
1433 cyclodextrine en question.

1434 Paramètres expérimentaux dont l'introduction dans la monographie est à envisager :

- 1435 • paramètres instrumentaux : tension, polarité, température, dimensions du capillaire
- 1436 (diamètre et longueur – longueur totale et longueur efficace – jusqu'au détecteur),
- 1437 • matériau greffé sur le capillaire (le cas échéant),
- 1438 • tampon : pH, molarité, composition,
- 1439 • solvant de l'échantillon,
- 1440 • séparation : polarité, tension U , intensité I ,
- 1441 • injection : temps t , tension U pour l'injection électrocinétique ou différence de pression Δp
- 1442 pour l'injection hydrodynamique,
- 1443 • détection : longueur d'onde, instrumentation,
- 1444 • température,
- 1445 • durée de conservation des solutions,
- 1446 • procédures de rinçage (temps, réactifs, Δp) requises pour stabiliser les temps de migration
- 1447 et la résolution des pics :
- 1448 o préconditionnement d'un nouveau capillaire,
- 1449 o préconditionnement du capillaire avant une série de mesures,
- 1450 o rinçage entre deux déterminations.
- 1451

1452 Les informations suivantes sont indiquées en note de bas de page, puis transférées dans la base de
1453 données Knowledge de l'EDQM, après adoption de la monographie :

- 1454 • si un capillaire greffé est utilisé, la dénomination commerciale du capillaire qui s'est avéré
- 1455 convenir pendant l'élaboration de la monographie,
- 1456 • pour les séparations chirales, la dénomination commerciale du sélecteur chiral
- 1457 (cyclodextrine ou autre) qui s'est avéré convenir pendant l'élaboration de la monographie.
- 1458

1459 Pour réduire le signal dû au flux électro-osmotique, il est souhaitable d'utiliser, chaque fois que
1460 possible, de l'eau pour chromatographie R ou le tampon d'électrophorèse comme solvant pour la
1461 préparation de la solution à examiner et des solutions témoins.

1462 II.7.9. Substances facilement carbonisables

1463 Cet essai non spécifique a beaucoup perdu de son intérêt avec l'introduction des essais
1464 chromatographiques, qui fournissent davantage d'informations sur les impuretés organiques.
1465 L'essai des substances facilement carbonisables est souvent très sensible, ce qui peut s'avérer un
1466 avantage majeur, lorsque cela est nécessaire. Il convient néanmoins de noter que les impuretés qui
1467 produisent une coloration dans les conditions de l'essai donnent souvent une réponse tout aussi
1468 satisfaisante lors d'un essai colorimétrique en simple solution aqueuse ou alcoolique. Dans ce cas,

1469 il est conseillé d'éviter un doublon inutile.

1470 S'il apparaît, lors de l'élaboration d'une monographie, que certaines impuretés susceptibles d'être
1471 présentes ne sont pas contrôlées par les autres essais, il convient d'effectuer l'essai des substances
1472 facilement carbonisables et de l'introduire dans la monographie, s'il y a lieu.

1473 II.7.10. Anions et/ou cations étrangers

1474 Les bases et acides inorganiques forts étant d'un usage courant en synthèse, la teneur d'une
1475 substance en anions et/ou en cations étrangers peut constituer un indicateur du degré de purification
1476 assuré. Elle peut également révéler une éventuelle contamination par des substances étroitement
1477 apparentées. Parallèlement, les impuretés typiquement ioniques peuvent être éliminées des
1478 substances faiblement hydrosolubles (par traitement par l'eau) sans pour autant éliminer les
1479 impuretés organiques. Par conséquent, la recherche des anions et cations, sans remplacer un essai
1480 des substances apparentées dans les substances organiques, peut constituer un complément utile
1481 dans le cas de substances organiques hydrosolubles. Pour les substances inorganiques, généralement
1482 préparées à partir d'autres substances inorganiques, une gamme plus étendue de recherches d'ions
1483 étrangers doit être envisagée.

1484 Lorsque l'introduction d'une recherche d'anions étrangers dans des substances organiques est
1485 envisagée, un seul essai (chlorures, sulfates ou, plus rarement, nitrates) suffit généralement, même
1486 si plusieurs anions peuvent théoriquement être présents. L'essai doit alors être effectué sur le plus
1487 abondant d'entre eux. S'agissant des chlorures, il est souhaitable (jusqu'à 0,10 %) d'utiliser un
1488 essai limite plutôt qu'un titrage.

1489 Certains cations doivent être strictement limités du fait de leur toxicité ou de leur activité
1490 catalytique. La partie II.7.11 de ce guide technique leur est consacrée. À moins qu'il existe
1491 des raisons particulières de limiter leur présence, individuellement ou par petits groupes, une
1492 détermination de la teneur en cendres sulfuriques permet de contrôler de façon adéquate la majorité
1493 des cations dans les substances organiques (voir partie II.7.18).

1494 II.7.11. Impuretés élémentaires

1495 Le *guideline* ICH couvrant tous les médicaments pour usage humain présents sur le marché, un
1496 renvoi au chapitre général 5.20 (en lien avec le *guideline* ICH Q3D) a été introduit dans la
1497 monographie générale *Préparations pharmaceutiques (2619)*, ce qui rend obligatoire l'application
1498 du *guideline*.

1499 Depuis la 9^e Édition de la Ph. Eur., tous les essais des métaux lourds (2.4.8) ont été supprimés des
1500 monographies spécifiques portant sur des substances à usage humain ou vétérinaire. À compter de
1501 la 11^e Édition, les essais des métaux lourds seront également supprimés des monographies
1502 spécifiques portant sur des substances à usage exclusivement vétérinaire. Dans ces deux cas, aucun
1503 essai de ce type ne figure plus dans les nouvelles monographies. Pour les produits relevant du champ
1504 d'application du *guideline* ICH Q3D, les utilisateurs-trices sont supposé-es appliquer les
1505 orientations formulées dans le *guideline*, et des procédures analytiques peuvent être développées
1506 avec l'aide du chapitre général 2.4.20. *Dosage des impuretés élémentaires*.

1507 Une politique différente s'applique aux monographies qui décrivent des essais relatifs aux impuretés
1508 élémentaires spécifiques. La décision relative au maintien ou à la suppression de ces essais dans les

1509 monographies concernées, et en particulier dans les monographies d'excipients d'origine naturelle,
1510 est prise au cas par cas.

1511 II.7.12. Perte à la dessiccation (2.2.32)

1512 Il convient de noter que l'essai de perte à la dessiccation mesure l'eau, mais aussi les autres
1513 substances volatiles à la température de dessiccation prescrite.

1514 En règle générale, seule une limite supérieure de perte à la dessiccation est spécifiée. Si la substance
1515 est définie comme un hydrate (ou un solvate), des limites inférieure et supérieure sont indiquées. La
1516 dessiccation est effectuée jusqu'à masse constante, sauf si une durée de dessiccation est spécifiée
1517 dans la monographie. Il convient toutefois de noter que la durée de dessiccation indiquée ne permet
1518 pas nécessairement d'obtenir une substance desséchée. Lorsqu'une durée de dessiccation est
1519 spécifiée, des données de validation adéquates doivent être fournies. Lorsque la température de
1520 dessiccation est indiquée par une seule valeur, une tolérance de ± 2 °C est sous-entendue. Pour les
1521 températures supérieures à 105 °C, une tolérance plus large doit être indiquée dans la monographie.

1522 En vertu des accords conclus au sein du Groupe de discussion des pharmacopées (GDP), une
1523 température de 105 °C est généralement prescrite pour la réalisation de l'essai sur des substances
1524 chimiques.

1525 Le chapitre général 2.2.32. *Perte à la dessiccation* décrit quatre types de conditions standard,
1526 auxquelles il est fait référence dans les monographies au moyen d'expressions conventionnelles :

1527 a) « dans un dessiccateur » (en présence d'environ 100 g de *tamis moléculaire R*, à pression
1528 atmosphérique ou sous pression réduite, à température ambiante),

1529 b) « sous vide » (sur un *tamis moléculaire R*, sous une pression ne dépassant pas 2,5 kPa, à
1530 température ambiante),

1531 c) « sous vide, avec indication d'un intervalle de température » (sur un *tamis moléculaire R*, sous
1532 une pression ne dépassant pas 2,5 kPa, dans l'intervalle de température spécifié dans la
1533 monographie) (REMARQUE : le pouvoir déshydratant des dessiccants diminue avec
1534 l'augmentation de la température),

1535 d) « à l'étuve, avec indication d'un intervalle de température » (la température spécifiée à privilégier
1536 est 105 °C, pour harmonisation avec la Pharmacopée japonaise et la Pharmacopée des États-Unis,
1537 avec une tolérance implicite de ± 2 °C).

1538 Si d'autres conditions sont utilisées, en particulier sous des pressions inférieures (pour les
1539 antibiotiques, par exemple), elles sont décrites dans la monographie. L'agent de dessiccation à
1540 privilégier est un tamis moléculaire de 0,5 nm.

1541 Il convient d'indiquer les limites inférieures à 10 % avec deux chiffres significatifs et celles
1542 supérieures ou égales à 10 % avec trois chiffres significatifs. La prise d'essai est choisie de telle
1543 sorte que la différence de masse avant et après dessiccation soit de l'ordre de 5-50 mg ; elle est
1544 indiquée avec quatre chiffres significatifs.

1545 L'essai peut être effectué à l'échelle d'une semi-microdétermination. Il convient alors de spécifier
1546 en conséquence l'exactitude de pesée de la prise d'essai.

1547 La méthode d) est à privilégier lorsque le produit est suffisamment stable à 105 °C. Sinon, la

1548 méthode b) ou la méthode c) est généralement appliquée. Il est cependant important de garder à
1549 l'esprit que les solvants organiques ne sont pas toujours faciles à éliminer (solvants organiques dans
1550 la colchicine, par exemple).

1551 II.7.13. Thermogravimétrie (2.2.34)

1552 Cette méthode peut être utilisée pour déterminer la perte à la dessiccation lorsque la prise d'essai
1553 est réduite, afin de limiter l'exposition de l'analyste à des substances toxiques (sulfate de vincristine
1554 et sulfate de vinblastine, par exemple) ou lorsque la substance n'est disponible qu'en quantité
1555 limitée.

1556 II.7.14. Semi-microdosage de l'eau (2.5.12) (Karl-Fischer volumétrie)

1557 Il convient d'indiquer la dénomination commerciale du titrant et du solvant utilisés pendant
1558 l'élaboration de la monographie en note de bas de page dans le projet de texte. Cette information
1559 sera transférée dans la base de données Knowledge de l'EDQM, après adoption de la monographie.

1560 Il convient d'indiquer les limites inférieures à 10 % avec deux chiffres significatifs et celles
1561 supérieures ou égales à 10 % avec trois chiffres significatifs. Si la teneur en eau est inférieure à
1562 0,5 %, il est recommandé de recourir au microdosage de l'eau. La prise d'essai est choisie de telle
1563 sorte que le volume de titrage soit d'environ 1 mL. Il est souhaitable de l'indiquer avec trois chiffres
1564 significatifs. Il peut s'avérer nécessaire de diminuer le titre du titrant pour les essais effectués sur
1565 des échantillons à faible teneur en eau.

1566 Dans le cas d'hydrates bien définis, la teneur en eau est spécifiée sous forme d'intervalle, tandis
1567 qu'une teneur maximale est généralement prescrite pour les produits contenant des quantités
1568 variables d'eau. Lorsque plusieurs formes d'hydratation sont identifiées, un renvoi à l'essai de
1569 teneur en eau est inclus dans la section IDENTIFICATION de la monographie.

1570 II.7.15. Microdosage de l'eau (2.5.32) (Karl-Fischer coulométrique)

1571 Aucune description détaillée de la composition du réactif électrolytique (anolyte et catolyte) ne
1572 figure dans le chapitre général, car la plupart des laboratoires utilisent des réactifs du commerce
1573 prêts à l'emploi.

1574 Il convient d'indiquer la dénomination commerciale du titrant (réactif électrolytique) utilisé pendant
1575 l'élaboration de la monographie en note de bas de page dans le projet de texte. Cette information
1576 sera transférée dans la base de données Knowledge de l'EDQM, après adoption de la monographie.

1577 Il est nécessaire de décrire la préparation de l'échantillon. Dans le cas d'une dissolution dans un
1578 solvant exempt d'eau, le solvant et le volume requis doivent être spécifiés. Lorsque l'on procède
1579 par évaporation de l'eau de l'échantillon par chauffage au four, la température de chauffage doit
1580 être précisée dans la monographie. Le gaz sélectionné et le débit du gaz sont indiqués en note de
1581 bas de page, avant d'être transférés dans la base de données Knowledge de l'EDQM. Le temps de
1582 chauffage peut également être précisé, selon l'instrument utilisé. Il convient de ne prescrire
1583 l'introduction directe de la substance solide dans la cuve à réaction que dans des cas exceptionnels
1584 (lorsqu'aucun solvant approprié n'a pu être identifié ou qu'il se produit une dégradation de la
1585 substance au chauffage, par exemple).

1586 Il convient d'exprimer les limites avec deux chiffres significatifs. Dans le cas d'hydrates bien
1587 définis, la teneur en eau est spécifiée sous forme d'intervalle, tandis qu'une teneur maximale est
1588 généralement prescrite pour les produits contenant des quantités variables d'eau. Lorsque plusieurs
1589 formes d'hydratation sont identifiées, un renvoi à l'essai de teneur en eau est inclus dans la section
1590 IDENTIFICATION de la monographie.

1591 Normalement, la prise d'essai est choisie de telle sorte que la teneur en eau soit comprise entre
1592 100 µg et 10 mg. Le dosage de quantités d'eau allant jusqu'à 10 µg n'est prescrit que lorsque la
1593 teneur en eau est très faible ou lorsque la prise d'essai est limitée en raison du coût de la substance.
1594 Le calcul est effectué sur la base de la valeur maximale indiquée dans la monographie. Il convient
1595 d'indiquer la prise d'essai avec trois chiffres significatifs.

1596 II.7.16. Dosage de l'eau par chromatographie en phase gazeuse

1597 La teneur en eau peut également être déterminée par CPG, avec détecteur à conductivité thermique.

1598 II.7.17. Détermination de l'eau par entraînement (2.2.13)

1599 Principalement utilisée pour les drogues végétales, cette méthode est applicable à une quantité de
1600 substance capable de libérer 2-3 mL d'eau.

1601 II.7.18. Cendres sulfuriques (2.4.14)

1602 Cet essai est généralement destiné au dosage global de la somme des cations étrangers présents dans
1603 les substances organiques et dans les substances inorganiques se volatilisant dans les conditions de
1604 l'essai. Pour la majorité des sels inorganiques de substances organiques, il présente donc un intérêt
1605 limité en tant qu'essai de pureté, en raison de l'erreur résultante.

1606 Sauf exception justifiée, la limite de l'essai des cendres sulfuriques est généralement établie à 0,1 %.
1607 La quantité de substance à utiliser pour l'essai doit être telle qu'un résidu correspondant à la limite
1608 pèse au moins 1 mg (calculé par différence de masse) ; la masse de la prise d'essai est alors spécifiée
1609 avec le nombre de chiffres significatifs requis (1,0 g). Si la substance analysée contient du fluor, il
1610 convient de décrire, dans la monographie, l'utilisation d'un creuset de platine.

1611 II.7.19. Résidu à l'évaporation

1612 La quantité de substance liquide prescrite pour l'essai doit être telle qu'un résidu correspondant à la
1613 limite pèse au moins 1,0 mg. La masse ou le volume de la prise d'essai est normalement de l'ordre
1614 de 10-100 g (ou mL).

1615 II.7.20. Solvants résiduels (2.4.24)

1616 Le contrôle des solvants résiduels est couvert par le chapitre général 5.4. *Solvants résiduels* et par
1617 la monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*, lesquels mettent en
1618 application le *guideline* ICH Q3C. L'une des procédures décrites dans le chapitre général 2.4.24
1619 doit être validée si elle est appliquée de manière quantitative aux solvants résiduels présents dans
1620 une substance. Des procédures validées adaptées peuvent être utilisées à la place de celles décrites
1621 dans le chapitre général 2.4.24.

- 1622 Pour les solvants de classe 1, un essai figure dans la monographie si le solvant est potentiellement
1623 présent dans un produit approuvé.
- 1624 Pour les solvants de classe 2, la monographie ne comporte pas d'essai puisque la limite peut être
1625 établie selon l'option 2 du chapitre général 5.4. *Solvants résiduels*, qui prend en compte tous les
1626 ingrédients d'un médicament.
- 1627 Pour les solvants de classe 3, un essai figure dans la monographie si le solvant est potentiellement
1628 présent à une teneur supérieure à 0,5 % dans un produit approuvé ; sinon, un essai de perte à la
1629 dessiccation est généralement prescrit.
- 1630 Lorsqu'un solvant résiduel fait l'objet d'une analyse quantitative et qu'il n'est pas effectué d'essai
1631 de perte à la dessiccation, la teneur en solvants résiduels est prise en compte dans le calcul du
1632 résultat du dosage, du pouvoir rotatoire spécifique et de l'absorbance spécifique.

1633 II.7.21. Endotoxines bactériennes

- 1634 Lorsqu'une substance pour usage pharmaceutique est destinée à être administrée par injection ou
1635 par irrigation, elle doit satisfaire à l'essai des endotoxines bactériennes. Des indications sur la façon
1636 d'établir des limites sont données dans le chapitre général 5.1.10. *Recommandations pour la*
1637 *réalisation de l'essai des endotoxines bactériennes*. En principe, l'essai n'est plus introduit dans les
1638 nouvelles monographies, la conformité à l'essai étant exigée dans la monographie générale
1639 *Substances pour usage pharmaceutique (2034)*. L'essai ne figure dans les monographies que
1640 lorsqu'il est nécessaire d'y décrire une procédure spécifique (préparation spécifique des échantillons
1641 ou méthode spécifique du chapitre général 2.6.14, par exemple). Dans ce cas, les monographies ne
1642 spécifient pas de limite.
- 1643 Pour les monographies en cours de révision, la décision relative au maintien ou à la suppression de
1644 l'essai et/ou de la limite est prise au cas par cas.
- 1645 Lors de l'élaboration et, le cas échéant, de la révision d'une monographie, il convient de procéder
1646 au recueil et à l'examen de données, pour déterminer s'il est nécessaire de décrire une préparation
1647 spécifique des échantillons ou si l'on peut considérer que le contrôle des endotoxines bactériennes
1648 est convenablement couvert par la monographie générale *Substances pour usage pharmaceutique*
1649 *(2034)*. Ces données doivent notamment comprendre une validation de l'essai des endotoxines
1650 bactériennes, des données de lots et la démonstration de l'absence d'interférence de la substance
1651 dans l'essai.
- 1652 Lorsqu'un essai des pyrogènes est remplacé par un essai des endotoxines bactériennes, la décision
1653 de faire figurer au non l'essai dans la monographie est prise sur la base des mêmes considérations.
1654 Les informations relatives au remplacement des procédures d'essai figurent dans la base de données
1655 Knowledge de l'EDQM.

1656

1657 II.8 DOSAGE

1658 Toutes les monographies comportent un dosage, sauf dans les cas où :

- 1659
- toutes les impuretés prévisibles peuvent être détectées et limitées avec une exactitude et une

- 1660 fidélité suffisantes,
- 1661 • certains essais quantitatifs assimilables à des dosages (pouvoir rotatoire spécifique,
- 1662 absorbance spécifique, etc.) sont effectués avec une exactitude et une fidélité suffisantes,
- 1663 • des profils de composition spécifiques sont établis, par exemple la composition du mélange
- 1664 des acides gras constitutifs de la substance (voir chapitre général 2.4.22. *Composition en*
- 1665 *acides gras par chromatographie en phase gazeuse*) ou la composition de la fraction
- 1666 stérolique d'une graisse ou d'une huile grasse (voir chapitre général 2.4.23. *Stérols dans*
- 1667 *les huiles grasses*),
- 1668 • les essais réalisés suffisent à établir la qualité de la substance (généralement pour les
- 1669 substances non actives, telles que l'éthanol ou l'eau).

1670

1671 Il peut être nécessaire de procéder à plusieurs dosages si :

- 1672 • la substance à examiner se compose de deux constituants qui ne sont pas obligatoirement
- 1673 présents en proportion absolument fixe, de sorte que le dosage d'un seul d'entre eux ne
- 1674 permet pas de doser correctement la substance dans son intégralité (théophylline et
- 1675 éthylènediamine, par exemple),
- 1676 • le résultat des essais quantitatifs ne reflète pas totalement l'activité thérapeutique, auquel
- 1677 cas un titrage biologique est introduit.

1678

1679 Dans le cas de sels bien définis, le dosage d'un seul des ions (de préférence, l'entité

1680 pharmacologiquement active) est généralement considéré comme suffisant. Il n'est que rarement

1681 nécessaire de doser tous les ions et, dans tous les cas, il est jugé superflu de doser l'un des ions par

1682 deux méthodes, même fondées sur des principes analytiques différents.

1683 Lorsque l'identification et les essais de pureté sont suffisamment spécifiques et sélectifs, un titrage

1684 non spécifique, mais fidèle (titrage volumétrique, par exemple) peut remplacer un titrage

1685 spécifique, mais moins fidèle. Lorsqu'une substance active est couverte par une monographie et

1686 qu'une monographie existe déjà pour le médicament correspondant ou qu'elle est en cours

1687 d'élaboration, la même procédure de dosage chromatographique doit idéalement être décrite.

1688 Toute procédure de dosage/titrage proposée doit être validée selon les procédures décrites pour les

1689 différentes techniques dans la partie III.

1690 II.8.1. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25)

1691 Les dosages spectrophotométriques UV-Vis peuvent être effectués directement ou après une

1692 réaction chimique appropriée. La préférence est généralement donnée à d'autres techniques. Dans

1693 le cadre de la révision des monographies contenant un dosage uniquement basé sur la

1694 spectrophotométrie UV-Vis, il est recommandé de le remplacer par un dosage basé sur une

1695 séparation chromatographique ou par un titrage.

1696 II.8.1.1. *Mesure directe*

1697 Non spécifique, elle peut toutefois présenter une exactitude et une fidélité acceptables et est

1698 généralement réalisée sans substance de référence : l'absorbance de la solution est mesurée au

1699 maximum d'absorption spécifié, puis la teneur de la substance à examiner est calculée sur la base

1700 de l'absorbance spécifique indiquée dans la monographie.

1701 La valeur de l'absorbance spécifique doit être vérifiée pour les nouvelles substances. Le fabricant
 1702 doit fournir des données de validation justifiant la valeur adoptée comme valeur « vraie » ; sinon,
 1703 cette valeur doit être validée par le ou la (co-)rapporteur·e. Ces données de validation comprennent,
 1704 par exemple, la pureté de la substance utilisée pour déterminer cette valeur, qui est mise en
 1705 évidence à l'aide de plusieurs méthodes (techniques séparatives, méthodes absolues, facteurs de
 1706 réponse des impuretés probables, solvants, etc.).

1707 Avec une substance de référence, la teneur en substance active est calculée par comparaison de
 1708 l'absorbance de la solution à examiner à celle d'une solution de la substance de référence.

1709 Pour les détails expérimentaux et les résultats, voir chapitre général 2.2.25. *Spectrophotométrie*
 1710 *d'absorption dans l'ultraviolet et le visible.*

1711 II.8.1.2. *Mesure après réaction colorée*

1712 Cette mesure est effectuée par comparaison à une substance de référence. L'exactitude et la fidélité
 1713 de la méthode peuvent être moindres en raison du traitement des échantillons.

1714 II.8.2. Analyse volumétrique

1715 La quantité de substance utilisée pour le dosage est telle que le volume de titrant consommé au point
 1716 final, avec un équipement de titrage automatique, soit inférieur à 10 mL – de préférence 7-8 mL –,
 1717 afin de permettre l'emploi d'un équipement de titrage classique. Dans le cas d'un titrage en retour, le
 1718 volume fixé pour le premier titrant ajouté doit, en outre, être suffisamment important pour que le résultat
 1719 du titrage ne soit pas fondé sur des volumes trop similaires.

1720 Des essais à blanc doivent être prescrits chaque fois que nécessaire, à moins d'être déjà spécifiés dans
 1721 le chapitre général correspondant. La réalisation d'un essai à blanc peut être omise lorsque le milieu
 1722 dans lequel est déterminé le titre de la solution titrée est de même composition que celui dans lequel
 1723 elle est utilisée.

1724 La monographie peut spécifier une détermination du point de fin de titrage par potentiométrie ou
 1725 par observation visuelle du virage d'un indicateur coloré, lorsqu'un titrage acidobasique ou redox
 1726 est décrit. La détermination du point de fin de titrage par potentiométrie (2.2.20. *Titration*
 1727 *potentiométrique*) s'applique dans la plupart des cas. Il convient d'éviter l'observation visuelle
 1728 du virage d'un indicateur coloré, sauf pour les dosages par complexométrie, pour lesquels ce
 1729 n'est généralement pas possible. Lorsqu'une détection potentiométrique est spécifiée, le type
 1730 d'électrode indicatrice à utiliser n'est indiqué dans le texte qu'en cas de nécessité (type spécial
 1731 d'électrode). Le nombre de points d'inflexion à considérer est également précisé. D'autres modes
 1732 de détection peuvent être spécifiés, tels que la méthode ampérométrique (2.2.19. *Titration*
 1733 *ampérométrique*) ou la méthode voltamétrique (2.2.65. *Titration voltamétrique*). Quelle que soit la
 1734 méthode retenue, elle doit être suffisamment reproductible et, de préférence, stœchiométriquement
 1735 exacte. Lorsqu'un indicateur coloré est spécifié, le changement de coloration n'est précisé que s'il
 1736 est différent de celui décrit dans le chapitre général 4.1.1. *Réactifs.*

1737 Les méthodes suivantes sont recommandées pour le titrage des sels halogénés des bases organiques
 1738 et certaines substances à fonction ammonium quaternaire :

1739 a) Titration alcalimétrique en milieu alcoolique. Il s'agit de la méthode de titration recommandée pour
 1740 les sels halogénés. Pour effectuer ce type de titration, il peut être nécessaire d'ajouter 5 mL d'*acide*

1741 *chlorhydrique 0,01 M* avant le titrage et de mesurer le volume de titrant utilisé entre les deux points
 1742 d'inflexion. Il est cependant préférable de tester préalablement la faisabilité du titrage avant
 1743 d'ajouter de l'*acide chlorhydrique 0,01 M*.

1744 b) Titrage par l'acide perchlorique, avec dissolution de l'échantillon dans l'acide acétique anhydre
 1745 avant addition d'anhydride acétique ou d'un mélange d'anhydride acétique et d'acide formique
 1746 anhydre.

1747 c) Argentimétrie.

1748 d) Les méthodes a) (avec addition de 5 mL d'*acide chlorhydrique 0,01 M*) et b) sont souvent
 1749 appropriées pour les substances à fonction ammonium quaternaire.

1750 II.8.3. Techniques basées sur la chromatographie

1751 Dans la Ph. Eur., les techniques chromatographiques sur lesquelles peuvent être basés les dosages
 1752 se limitent normalement à la CL et à la CPG. Les recommandations figurant dans la partie II.7.8 sur
 1753 les substances apparentées pour la CL et la CPG sont également valables pour le développement de
 1754 dosages basés sur ces techniques. L'emploi d'un étalon externe en CL et l'ajout d'un étalon interne
 1755 en CPG sont recommandés. Ces méthodes impliquent l'utilisation d'une SCR auquel une teneur
 1756 est assignée (voir partie I.7. Étalons de référence).

1757 II.8.4. Dosage de l'azote après minéralisation par l'acide sulfurique (2.5.9)

1758 À toute substance dosée par cette méthode doit être assigné un temps de minéralisation, après
 1759 détermination du profil de minéralisation de la substance.

1760 Le profil de minéralisation peut être déterminé comme suit : plusieurs prises d'essai de la substance,
 1761 pesées individuellement et correspondant à la quantité prescrite, sont soumises à l'essai
 1762 conformément au chapitre général, tout en faisant varier le temps d'ébullition du mélange de
 1763 réaction (normalement jusqu'à 120 min), après clarification du mélange. En établissant le
 1764 graphique des teneurs en azote obtenues en fonction du temps d'ébullition, il est possible de
 1765 déterminer le temps minimal de minéralisation nécessaire pour obtenir une valeur constante. Si
 1766 le temps requis dépasse 30 min, il est spécifié dans la monographie.

1767 II.9 CONSERVATION

1768 Bien que les indications figurant sous ce titre dans les monographies de la Ph. Eur. ne constituent
 1769 pas des exigences de pharmacopée, les informations utiles au maintien de la qualité de la substance
 1770 au cours de sa conservation y sont précisées, s'il y a lieu.

1771 Il convient d'utiliser la terminologie indiquée dans les *Prescriptions générales* et dans le chapitre
 1772 général 3.2. *Réipients*. La protection contre les pertes ou gains d'éléments via la phase gazeuse
 1773 nécessite l'emploi d'un « récipient étanche ». Un « récipient scellé » est également « inviolable »,
 1774 alors que l'inverse n'est pas forcément vrai.

1775 Il convient de demander aux fabricants de fournir des données de stabilité. Pour établir les
 1776 indications qui figureront dans la monographie, le comportement de la substance lors de l'exposition
 1777 à l'atmosphère, à divers taux d'humidité, à différentes températures et à la lumière actinique est à

1778 prendre en compte. Lorsqu'une substance est décrite, dans la section CARACTERES, comme
 1779 hygroscopique, déliquescente ou sensible à l'air, sa conservation en « récipient étanche » est
 1780 indiquée. Lorsqu'une substance est sensible à la lumière actinique, elle est conservée « à l'abri de
 1781 la lumière ».

1782 À cet égard, il faut souligner que la méthode décrite pour l'hygroscopicité dans le chapitre
 1783 général 5.11. *Caractères dans les monographies* n'a pas vocation à permettre de définir les
 1784 conditions de conservation. Elle constitue simplement un moyen rapide, pour l'analyste, d'obtenir
 1785 une indication de l'hygroscopicité de la substance, afin de l'aider à prendre les précautions
 1786 nécessaires lors de l'examen de la substance dans les conditions du laboratoire.

1787 II.10 ÉTIQUETAGE

1788 L'étiquetage des médicaments fait l'objet d'accords internationaux et de réglementations nationales
 1789 et supranationales. De ce fait, les indications figurant dans la section ETIQUETAGE ne sont pas
 1790 exhaustives : elles comprennent des mentions à caractère obligatoire (nécessaires à l'application de
 1791 la monographie) et d'autres mentions qui constituent de simples recommandations. En général, les
 1792 exigences relatives à l'étiquetage des substances actives en vrac, figurant dans cette section d'une
 1793 monographie de la Ph. Eur., se limitent aux points essentiels à la bonne interprétation des autres exigences
 1794 du texte. Lorsque, par exemple, une matière de départ est tenue, pour certains usages, de satisfaire
 1795 à des exigences particulières (stérilité, par exemple), l'étiquette doit indiquer que le contenu du
 1796 récipient est, dans les cas appropriés, conforme à ces exigences. Par ailleurs, lorsque l'ajout de
 1797 certains stabilisants ou autres additifs est autorisé par la monographie, leur présence doit,
 1798 généralement, être signalée sur l'étiquette.

1799 II.11 IMPURETÉS

1800 Il est souhaitable d'intégrer, aux monographies de substances chimiques organiques, une section
 1801 IMPURETES, définissant les impuretés qui sont détectées par les essais prescrits et qui ont été prises
 1802 en considération lors de la définition des critères d'acceptation applicables aux substances
 1803 apparentées. Ces impuretés y sont divisées en deux catégories : « Impuretés spécifiées » et « Autres
 1804 impuretés décelables ». Toutes les impuretés spécifiées couvertes par la monographie sont citées
 1805 dans cette section. Il peut également être utile d'y faire figurer des informations sur les autres impuretés
 1806 décelables (impuretés dont la détection par les essais de la monographie est connue et a fait l'objet d'une
 1807 vérification expérimentale), mais qui ne sont, pour autant que l'on sache, pas décelées à une teneur
 1808 supérieure au seuil d'identification dans les lots de production actuels.

1809 La section IMPURETES indique, pour chaque impureté citée, sa structure et sa nomenclature
 1810 chimiques (celles de la base/de l'acide/de la substance neutre, pas celles du sel). Les impuretés sont
 1811 désignées par une lettre majuscule (A, B, C, D, etc.). Leur dénomination courante peut être indiquée
 1812 entre parenthèses, dans les cas où cette information est jugée utile.

1813 La section IMPURETES peut également donner des informations sur l'essai/les essais limitant une
 1814 impureté donnée, par exemple lorsqu'il ne s'agit pas de l'essai des « Substances apparentées »
 1815 (« Pureté énantiomérique ») ou lorsque la monographie comporte plusieurs essais de substances
 1816 apparentées.

1817 II.12 CARACTÉRISTIQUES LIÉES À LA FONCTIONNALITÉ

1818 Les monographies d'excipients peuvent comporter une section CARACTERISTIQUES LIEES A LA
1819 FONCTIONNALITE. Ce titre est suivi d'un paragraphe introductif standard précisant que les essais
1820 décrits ne sont pas d'application obligatoire. Les usages de la substance concernés par chaque
1821 caractéristique liée à la fonctionnalité sont également indiqués. Les caractéristiques liées à la
1822 fonctionnalité peuvent être présentées :

- 1823 • simplement par leur nom,
- 1824 • par leur nom avec indication d'une méthode recommandée parmi les chapitres généraux de
1825 la Ph. Eur.,
- 1826 • par leur nom avec indication d'une méthode et de valeurs types,
- 1827 • par leur nom, avec renvoi à un essai présent dans la partie d'application obligatoire de la
1828 monographie.
- 1829

1830 III. VALIDATION ANALYTIQUE

1831 Cette section décrit les procédures à appliquer pour valider les essais dont la description a vocation
1832 à figurer dans les monographies de la Ph. Eur. Ces essais peuvent être des identifications, des essais
1833 de pureté instrumentaux ou non instrumentaux ou des dosages. Les exigences de validation varient
1834 selon le type d'essai considéré et la technique utilisée. Cette section reprend les textes relatifs à la
1835 validation analytique adoptés par l'ICH, en 1994, l'extension du texte *Validation of Analytical*
1836 *Procedures* de l'ICH, qui contient des informations utiles sur les exigences de validation relatives
1837 aux demandes d'enregistrement et des orientations spécifiques concernant la validation de
1838 différentes techniques analytiques mises en œuvre dans les procédures pharmaceutiques.

1839 III.1 TERMES ET DÉFINITIONS

1840 [Document ICH. Texte adopté et publié par l'ICH (*International Conference on Harmonisation of*
1841 *Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human use*) (1994) –
1842 traduction libre].

1843 III.1.1. Introduction

1844 Le présent document traite des paramètres à prendre en compte pour la validation des procédures
1845 analytiques figurant dans les dossiers d'enregistrement présentés dans l'UE, au Japon et aux États-
1846 Unis. Il ne couvre pas nécessairement les essais susceptibles d'être exigés pour l'enregistrement
1847 dans d'autres régions du monde ou pour l'exportation vers ces régions, et n'a pas non plus pour
1848 objet de fournir des indications sur la façon d'effectuer la validation ; il se présente plutôt comme
1849 un ensemble de termes et définitions, établis dans l'objectif de rapprocher les points de vue souvent
1850 divergents des Pharmacopées et autorités réglementaires de l'UE, du Japon et des États-Unis.

1851 La validation d'une procédure analytique a pour objectif de démontrer que cette procédure est
1852 appropriée à l'usage qui en est prévu. Un résumé des paramètres pertinents selon que l'on considère
1853 une identification, un essai de pureté ou un dosage est fourni plus loin sous forme de tableau. Le
1854 présent document est susceptible d'être ultérieurement étendu à d'autres types de procédures
1855 analytiques.

1856 III.1.2. Types de procédures analytiques à valider

1857 Les quatre types les plus courants de procédures analytiques sont traités ici :

- 1858 • identification,
- 1859 • détermination quantitative de teneurs en impuretés,
- 1860 • essais limites pour le contrôle des impuretés,
- 1861 • essais quantitatifs portant sur l'entité active, dans un échantillon d'une substance
1862 pharmaceutique ou d'un médicament, ou sur un ou plusieurs autres composants
1863 sélectionnés du médicament.

1864
1865 Il existe certes beaucoup d'autres types de procédures analytiques, par exemple les essais de
1866 dissolution pour les médicaments ou la détermination de la granulométrie des particules pour les
1867 substances actives, mais ils ne sont pas traités dans ce premier texte sur la validation des procédures

1868 analytiques. Leur validation est néanmoins tout aussi importante que celle des types d'essais cités
1869 ici et pourra faire l'objet de documents ultérieurs.

1870 Les différents types d'essais considérés dans le présent document sont brièvement décrits ci-après :

- 1871 • Les identifications ont pour objet de confirmer l'identité d'une substance à analyser dans
1872 un échantillon. Cette confirmation est généralement réalisée par comparaison de
1873 l'échantillon et d'un étalon de référence pour une certaine propriété (spectre,
1874 comportement chromatographique, réactivité chimique, etc.).
- 1875 • Les essais de pureté peuvent être des essais quantitatifs ou des essais limites portant sur
1876 les impuretés contenues dans un échantillon. Dans l'un et l'autre cas, l'essai est censé
1877 refléter avec exactitude les caractéristiques de pureté de l'échantillon. Les paramètres de
1878 validation à considérer pour un essai quantitatif et pour un essai limite sont différents.
- 1879 • Les dosages ont pour objet la mesure de la quantité de substance à analyser contenue dans
1880 un échantillon donné. Dans le contexte du présent document, le dosage représente une analyse
1881 quantitative du ou des composants majeurs de la substance active. Pour les médicaments, des
1882 paramètres de validation semblables s'appliquent au dosage du ou des composants actifs
1883 ou d'autres composants sélectionnés. Les mêmes paramètres de validation s'appliquent
1884 également aux dosages associés à d'autres procédures analytiques (dissolution, par
1885 exemple).

1887 III.1.3. Paramètres et exigences de validation

1888 Il est important de bien définir l'objectif de la procédure analytique considérée, car de cet objectif
1889 dépendent les paramètres de validation qu'il conviendra d'évaluer. Les paramètres de validation
1890 types à considérer sont les suivants :

- 1891 • exactitude,
- 1892 • fidélité,
 - 1893 o répétabilité,
 - 1894 o fidélité intermédiaire,
- 1895 • spécificité,
- 1896 • limite de détection,
- 1897 • limite de quantification,
- 1898 • linéarité,
- 1899 • intervalle (de mesure).

1900
1901 Chacun de ces paramètres de validation est défini dans le glossaire figurant ci-après. Le tableau
1902 donne la liste des paramètres jugés comme étant les plus importants pour la validation des différents
1903 types de procédures analytiques. Il convient de considérer cette liste comme une liste type pour la
1904 catégorie de procédures analytiques concernée, mais qui autorise des exceptions à traiter au cas par
1905 cas. Il est convenu de noter que la robustesse n'est pas citée, mais qu'elle doit néanmoins être prise en
1906 compte à une étape appropriée du développement de la procédure analytique.

1907 Par ailleurs, une revalidation peut être nécessaire dans les circonstances suivantes :

- 1908 • modification de la voie de synthèse de la substance active,
- 1909 • modification de la composition du médicament,

- 1910 • modification de la procédure analytique.

1911

1912 L'ampleur de la revalidation requise dépend de la nature des modifications intervenues. Certaines
1913 autres modifications peuvent également nécessiter une revalidation.

1914

PARAMÈTRE	TYPE DE PROCÉDURE ANALYTIQUE			
	IDENTIFICATION	ESSAI DE PURETÉ		DOSAGE
		Quantitatif	Limite	
Exactitude	–	+	–	+
Fidélité				
Répétabilité		+	–	+
Fidélité intermédiaire		+*	–	+*
Spécificité**	+	+	+	+
Limite de détection	–	-***	+	–
Limite de quantification	–	+	–	–
Linéarité	–	+	–	+
Intervalle de mesure	–	+	–	+

1915 – signifie que ce paramètre n'est normalement pas évalué.

1916 + signifie que ce paramètre est normalement évalué.

1917 * Si la reproductibilité (voir glossaire) a été évaluée, il n'est pas nécessaire d'évaluer la fidélité intermédiaire.

1918 ** Le manque de spécificité d'une procédure analytique peut être compensé par le recours à une ou plusieurs procédures
1919 analytiques complémentaires.

1920 *** Nécessaire dans certains cas.

1921

1922 III.1.4. Glossaire

1923 **Procédure analytique.** La procédure analytique est le mode de réalisation d'une analyse. Elle doit
1924 normalement décrire en détail les différentes étapes nécessaires à la réalisation de chaque essai
1925 analytique : échantillon, étalon de référence et préparation des réactifs, utilisation de l'appareillage,
1926 établissement de la courbe d'étalonnage, application des formules de calcul, etc., cette liste n'étant
1927 pas restrictive.

1928 **Spécificité.** La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à permettre l'évaluation
1929 univoque de la substance à analyser, en présence des autres composés susceptibles de
1930 l'accompagner. Ceux-ci comprennent typiquement les impuretés, les produits de dégradation, la
1931 matrice, etc.

1932 Le manque de spécificité d'une procédure analytique peut être compensé par le recours à une ou à
1933 plusieurs autres procédures analytiques complémentaires.

1934 Cette définition se traduit de la façon suivante :

- 1935 • Identification : garantir l'identité de la substance à analyser.

- 1936 • Essais de pureté : garantir que l'ensemble des procédures analytiques appliquées
1937 permettent une évaluation exacte de la teneur en impuretés de la substance à analyser
1938 (substances apparentées, métaux lourds, solvants résiduels, etc.).
- 1939 • Dosage (teneur ou activité) : fournir un résultat exact permettant d'évaluer avec exactitude
1940 la concentration ou l'activité de la substance à analyser dans un échantillon.
1941
- 1942 **Exactitude.** L'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la
1943 valeur acceptée comme conventionnellement vraie, ou comme valeur de référence, et la valeur
1944 trouvée. Elle est parfois appelée « justesse ».
- 1945 **Fidélité.** La fidélité d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord (mesure de la
1946 dispersion) entre une série de mesures obtenues à partir de plusieurs prises d'essai provenant d'un
1947 même échantillon homogène, dans les conditions prescrites. Elle peut être considérée à trois
1948 niveaux : répétabilité, fidélité intermédiaire et reproductibilité.
- 1949 Il convient d'évaluer la fidélité au moyen d'échantillons homogènes authentiques. Cependant, s'il
1950 n'est pas possible d'obtenir un échantillon homogène, elle peut être évaluée au moyen
1951 d'échantillons préparés artificiellement ou d'une solution échantillon.
- 1952 La fidélité d'une procédure analytique est, en général, exprimée en termes de variance, d'écart type
1953 ou de coefficient de variation d'une série de mesures.
- 1954 La **répétabilité** est l'expression de la fidélité obtenue dans des conditions opératoires identiques et
1955 dans un court intervalle de temps. Elle est également appelée « fidélité intraessai ».
- 1956 La **fidélité intermédiaire** est l'expression de la variabilité intralaboratoire (mesures effectuées à
1957 des jours différents, par des analystes différent-es, avec des équipements différents, etc.).
- 1958 La **reproductibilité** est l'expression de la variabilité interlaboratoire (études collaboratives,
1959 généralement menées aux fins de standardisation de la méthodologie).
- 1960 **Limite de détection.** La limite de détection d'une procédure analytique donnée est la plus petite
1961 quantité de substance à analyser qui peut être détectée dans un échantillon, sans forcément pouvoir
1962 être quantifiée de façon exacte.
- 1963 **Limite de quantification.** La limite de quantification d'une procédure analytique donnée est la plus
1964 petite quantité de substance à analyser qui peut être quantifiée, dans un échantillon, avec une
1965 exactitude et une fidélité appropriées. La limite de quantification intervient dans l'analyse
1966 quantitative des substances présentes à faible concentration dans des matrices échantillons ; elle est
1967 notamment utilisée pour le dosage des impuretés et/ou des produits de dégradation.
- 1968 **Linéarité.** La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité (à l'intérieur d'un intervalle
1969 donné) à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) de substance
1970 à analyser présente dans l'échantillon.
- 1971 **Intervalle (de mesure).** L'intervalle (de mesure) d'une procédure analytique est l'intervalle (limites
1972 inférieure et supérieure incluses) de concentration/quantité de substance à analyser (dans
1973 l'échantillon) sur lequel il a été démontré que la procédure analytique possède une fidélité, une
1974 exactitude et une linéarité appropriées.
- 1975 **Robustesse.** La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être
1976 affectée par des modifications faibles, mais délibérées, de facteurs associés à la procédure ; elle

1977 donne une indication de la fiabilité de la procédure analytique dans les conditions normales
1978 d'application.

1979 III.2 MÉTHODOLOGIE

1980 [Document ICH. Texte adopté et publié par l'ICH (1996) – traduction libre.]

1981 III.2.1. Introduction

1982 Ce document vient en complément du document ICH initial où sont présentés et discutés les
1983 paramètres à considérer pour la validation des procédures analytiques. Son objectif est de fournir
1984 orientations et recommandations sur la façon de considérer les différents paramètres de validation pour
1985 chaque procédure analytique. Dans certains cas (démonstration de la spécificité, par exemple), il est
1986 possible d'étudier les performances globales de plusieurs procédures analytiques, mises en œuvre
1987 concurremment, pour s'assurer de la qualité de la substance active ou du médicament. Le document
1988 contient également des indications sur les données à présenter dans le cadre de la demande d'AMM
1989 d'un nouveau médicament.

1990 Il convient de fournir toutes les données pertinentes recueillies en cours de validation et toutes les
1991 formules utilisées pour calculer les paramètres de validation, avec discussion le cas échéant.

1992 D'autres approches que celles proposées dans ce document sont, dans certains cas, applicables et
1993 acceptables. Il relève de la responsabilité du demandeur de choisir la procédure analytique et le
1994 protocole de validation les mieux appropriés au produit considéré. Il est néanmoins important de ne
1995 pas oublier que l'objectif principal de la validation d'une procédure analytique est de démontrer son
1996 adéquation à l'usage qui en est prévu. Les procédures analytiques utilisées pour les produits
1997 biologiques et biotechnologiques, du fait de leur complexité, peuvent être validées selon des
1998 approches différentes de celles exposées dans ce document.

1999 Lors des études de validation, il convient d'utiliser des matériaux de référence bien caractérisés,
2000 de pureté établie. Le degré de pureté requis dépend de l'usage prévu de ces étalons.

2001 Par souci de clarté et de cohérence avec le document initial, les différents paramètres de validation
2002 sont ici envisagés successivement. La séquence adoptée reflète le processus de développement et
2003 d'évaluation des procédures analytiques.

2004 Dans la pratique, il est généralement possible d'organiser les travaux expérimentaux de façon à
2005 pouvoir considérer simultanément les différents paramètres de validation pertinents, afin de
2006 parvenir à une évaluation globale et cohérente de la procédure analytique considérée (spécificité,
2007 linéarité, intervalle de mesure, exactitude et fidélité, par exemple).

2008 III.2.2. Spécificité

2009 Une étude de la spécificité est nécessaire pour la validation des identifications, des essais de pureté
2010 et du dosage. Les procédures mises en œuvre pour démontrer la spécificité dépendent du type
2011 d'application auquel est destinée la procédure analytique.

2012 Il est parfois impossible de démontrer la spécificité d'une procédure analytique pour une substance
2013 donnée (discrimination totale). Dans ce cas, il est recommandé d'associer au moins deux procédures

2014 analytiques pour parvenir au niveau de discrimination voulu.

2015 *III.2.2.1. Identification*

2016 Les identifications doivent permettre d'établir une discrimination entre des substances de structure
 2017 apparentée susceptibles d'être présentes. L'un des moyens de confirmer le pouvoir de
 2018 discrimination d'une procédure est de procéder parallèlement à une identification positive
 2019 (éventuellement par comparaison à un matériau de référence connu) sur des échantillons contenant
 2020 la substance à analyser, et à une identification négative sur des échantillons ne contenant pas cette
 2021 substance. On peut également appliquer l'essai d'identification à des substances structurellement
 2022 semblables ou étroitement apparentées à la substance à analyser, pour confirmer la négativité de la
 2023 réponse. Il est souhaitable que le choix de ces substances qui constituent des facteurs
 2024 d'interférence potentiels soit fondé sur des critères scientifiquement fondés prenant en considération
 2025 les interférences potentielles.

2026 *III.2.2.2. Dosages et essais de pureté*

2027 Dans le cas des procédures chromatographiques, il convient, pour démontrer la spécificité, d'utiliser
 2028 des chromatogrammes représentatifs sur lesquels les différents composants sont clairement
 2029 identifiés. L'approche à suivre est similaire pour les autres techniques séparatives.

2030 Il convient d'étudier les séparations critiques, en chromatographie, au niveau approprié ; il est
 2031 possible de démontrer la spécificité sur la base de la résolution obtenue pour deux composants élués
 2032 à des positions très voisines.

2033 Il est recommandé de coupler les dosages non spécifiques à des procédures analytiques
 2034 complémentaires permettant d'assurer la spécificité globale. Par exemple, lorsque le dosage de la
 2035 substance active est effectué par titrimétrie, il peut être associé à un essai de pureté approprié.

2036 L'approche à suivre est similaire pour les dosages et les essais de pureté.

2037 **Les impuretés sont disponibles**

- 2038 • Pour démontrer la spécificité dans le cas d'un dosage, il faut établir la capacité de la
 2039 procédure analytique à permettre la discrimination de la substance à analyser en présence
 2040 des impuretés et/ou des excipients. Dans la pratique, il est possible d'atteindre cet objectif
 2041 en ajoutant, à la substance active ou au médicament purs, des quantités appropriées
 2042 d'impuretés et/ou d'excipients et en démontrant que le résultat du dosage n'est pas affecté
 2043 par la présence de ces substances ajoutées (par comparaison au résultat obtenu avec des
 2044 échantillons non dopés).
- 2045 • Dans le cas des essais de pureté, on peut établir la discrimination en dopant la substance
 2046 active ou le médicament avec des quantités appropriées d'impuretés et en apportant la
 2047 preuve de la séparation de ces impuretés, entre elles et/ou par rapport à d'autres
 2048 composants de la matrice de l'échantillon. Une autre approche acceptable, pour les
 2049 procédures moins discriminantes, est de démontrer que ces impuretés peuvent encore être
 2050 dosées avec une exactitude et une fidélité appropriées.

2052 **Les impuretés ne sont pas disponibles**

2053 Si l'on ne dispose pas d'échantillons des impuretés ou des produits de dégradation, il est possible
 2054 de démontrer la spécificité en comparant les résultats obtenus avec des échantillons contenant ces

2055 impuretés ou produits de dégradation et les résultats obtenus par une seconde procédure, bien
2056 caractérisée, par exemple une procédure de pharmacopée ou une autre procédure analytique validée
2057 (procédure indépendante). À cet effet, il convient, le cas échéant, d'utiliser des échantillons ayant
2058 été exposés à des conditions de stress appropriées : lumière, chaleur, humidité, hydrolyse
2059 acide/basique et oxydation.

- 2060 • Pour les dosages, la comparaison porte sur les deux résultats.
- 2061 • Pour les essais de pureté, la comparaison porte sur les deux profils d'impuretés.

2062

2063 Une analyse de pureté des pics (barrette de diodes, spectrométrie de masse, par exemple) peut être
2064 utile pour établir que le pic attribué à la substance à analyser ne correspond pas à plusieurs
2065 composants.

2066 III.2.3. Linéarité

2067 Il convient d'établir la linéarité sur tout l'intervalle de mesure (voir partie III.2.4) de la procédure
2068 analytique considérée. Elle peut être démontrée en appliquant la procédure directement à la
2069 substance active (dilutions préparées à partir d'une solution mère) et/ou en l'appliquant à des
2070 mélanges synthétiques, dosés séparément, des différents composants du médicament. L'évaluation
2071 de la linéarité peut être effectuée lors de l'étude de l'intervalle de mesure.

2072 Pour établir la linéarité, il convient de représenter les réponses obtenues en fonction de la
2073 concentration/teneur en substance à analyser et de procéder à une évaluation visuelle du graphique
2074 qui en résulte. Si la relation est linéaire, il est alors souhaitable d'analyser les résultats par des
2075 méthodes statistiques appropriées, par exemple en calculant la droite de régression par la méthode
2076 des moindres carrés. Il peut être nécessaire, dans certains cas, pour obtenir une relation linéaire
2077 entre résultats de dosage et concentration, d'appliquer une transformation mathématique aux
2078 résultats d'essai avant d'effectuer l'analyse de régression. Les informations fournies par la droite
2079 de régression peuvent être utiles pour obtenir des estimations mathématiques du degré de linéarité.
2080 Il convient d'indiquer le coefficient de corrélation, l'ordonnée à l'origine, la pente de la droite de
2081 régression et la somme des carrés résiduels et de fournir une représentation graphique des résultats.
2082 Enfin, une analyse de l'écart entre les résultats effectifs et la droite de régression peut également
2083 s'avérer utile pour évaluer la linéarité.

2084 Pour certaines procédures analytiques, par exemple les immunodosages, il est impossible de
2085 démontrer la linéarité, même après transformation mathématique. Il convient, dans ce cas, de
2086 déterminer la fonction qui décrit de façon appropriée la relation entre les résultats d'analyse et la
2087 concentration (quantité) de la substance à analyser dans un échantillon.

2088 Pour établir la linéarité, il est recommandé d'utiliser au minimum cinq concentrations. Il convient
2089 de justifier le recours à d'autres approches.

2090 III.2.4. Intervalle de mesure

2091 L'intervalle de mesure spécifié découle normalement des études de linéarité et dépend du type
2092 d'application auquel est destinée la procédure analytique. Pour l'établir, il faut confirmer que cette
2093 procédure assure un degré acceptable de linéarité, d'exactitude et de fidélité lorsqu'elle est
2094 appliquée à des échantillons contenant la substance à analyser à des concentrations comprises dans
2095 l'intervalle (bornes comprises) correspondant à l'intervalle de mesure spécifié.

2096 Les intervalles minimums à considérer, selon les cas, sont les suivants :

- 2097 • pour le dosage d'une substance active ou d'un médicament : 80-120 % de la concentration
- 2098 soumise à l'essai ;
- 2099 • pour la détermination d'une impureté : de la limite de quantification (LQ) ou de 50 % de
- 2100 la limite spécifiée pour chaque impureté, si elle est supérieure à cette valeur, à 120 % de
- 2101 la limite spécifiée ;
- 2102 • pour les impuretés dont on sait qu'elles possèdent une activité inhabituellement élevée ou
- 2103 qu'elles ont un effet toxique ou une action pharmacologique indésirable, la limite de
- 2104 détection/quantification et la concentration limite tolérée doivent idéalement être du même
- 2105 ordre. *Remarque : pour la validation des essais de pureté en cours de développement, il*
- 2106 *peut être nécessaire de considérer l'intervalle encadrant une limite hypothétique*
- 2107 *(probable) ;*
- 2108 • si le dosage et l'essai de pureté sont effectués ensemble, sous la forme d'un essai unique,
- 2109 et que l'on utilise seulement une solution non diluée, l'étude de linéarité doit couvrir
- 2110 l'intervalle allant de la LQ ou de 50 % de la limite spécifiée pour chaque impureté, si elle
- 2111 est supérieure à cette valeur, à 120 % de la teneur spécifiée ;
- 2112 • pour l'uniformité de teneur : au minimum 70-130 % de la concentration soumise à l'essai,
- 2113 sauf si l'emploi d'un intervalle plus large est justifié pour la forme pharmaceutique
- 2114 considérée (inhalateurs-doseurs, par exemple) ;
- 2115 • pour l'essai de dissolution : ± 20 % sur l'intervalle spécifié ; par exemple, dans le cas d'un
- 2116 médicament à libération contrôlée, si les taux de dissolution spécifiés vont de 20 % après
- 2117 1 h à 90 % après 24 h, l'intervalle de validation doit être de 0-110 % de la teneur indiquée
- 2118 sur l'étiquette.
- 2119

2120 III.2.5. Exactitude

2121 L'exactitude doit être établie sur tout l'intervalle de mesure de la procédure analytique.

2122 III.2.5.1. Dosage

2123 **Substance active.** Il existe plusieurs approches possibles pour déterminer l'exactitude :

- 2124 • application de la procédure analytique à un échantillon de pureté connue (matériau de
- 2125 référence, par exemple),
- 2126 • comparaison des résultats respectivement obtenus par la procédure analytique à valider et
- 2127 par une seconde procédure, bien caractérisée, dont l'exactitude est indiquée et/ou définie
- 2128 (procédure indépendante),
- 2129 • détermination de l'exactitude lors de l'acquisition des données relatives à la fidélité, à la
- 2130 linéarité et à la spécificité.
- 2131

2132 **Médicament.** Il existe plusieurs approches possibles pour déterminer l'exactitude :

- 2133 • application de la procédure analytique à des mélanges de synthèse contenant les différents
- 2134 composants du médicament et auxquels sont ajoutées des quantités connues de la substance
- 2135 à analyser,
- 2136 • lorsqu'il est impossible d'obtenir des échantillons de tous les composants du médicament,

2137 il peut être acceptable de procéder soit en ajoutant au médicament des quantités connues
 2138 de la substance à analyser, soit en effectuant une comparaison avec les résultats obtenus
 2139 par une seconde procédure, bien caractérisée, dont l'exactitude est indiquée et/ou définie
 2140 (procédure indépendante),
 2141 • détermination de l'exactitude lors de l'acquisition des données relatives à la fidélité, à la
 2142 linéarité et à la spécificité.
 2143

2144 *III.2.5.2. Impuretés (quantification)*

2145 Il convient d'évaluer l'exactitude sur des échantillons (de la substance active ou du médicament)
 2146 dopés avec des quantités connues d'impuretés.

2147 Lorsqu'il est impossible de disposer d'échantillons de certaines impuretés et/ou de certains produits
 2148 de dégradation, il est acceptable d'effectuer une comparaison avec les résultats obtenus par une
 2149 procédure indépendante. Le facteur de réponse de la substance active peut être utilisé.

2150 *III.2.5.3. Recommandations sur les données à fournir*

2151 Il convient d'évaluer l'exactitude sur la base d'au moins neuf déterminations, avec au minimum
 2152 trois concentrations couvrant l'intervalle spécifié (trois concentrations avec trois répétitions
 2153 chacune, par exemple).

2154 Il convient d'indiquer l'exactitude en termes de pourcentage de recouvrement d'une quantité connue
 2155 de substance à analyser ajoutée à l'échantillon ou en termes de différence entre la moyenne obtenue
 2156 et la valeur conventionnellement vraie, avec les intervalles de confiance correspondants.

2157 **III.2.6. Fidélité**

2158 La validation des analyses quantitatives (dosage de la substance ou des impuretés) comprend une
 2159 évaluation de la fidélité.

2160 *III.2.6.1. Répétabilité*

2161 Il convient d'évaluer la répétabilité :

- 2162 • sur la base d'au moins neuf déterminations, couvrant l'intervalle spécifié pour la procédure
 2163 (trois concentrations avec trois répétitions chacune, par exemple), *ou*
- 2164 • sur la base d'au moins six déterminations à 100 % de la concentration soumise à l'essai.
 2165

2166 *III.2.6.2. Fidélité intermédiaire*

2167 L'ampleur des études à effectuer pour évaluer la fidélité intermédiaire dépend des circonstances
 2168 dans lesquelles il est prévu d'appliquer la procédure analytique. Le demandeur doit établir l'effet
 2169 de différents événements aléatoires sur la fidélité de la procédure analytique. Les facteurs de
 2170 variation type à étudier comprennent les variations d'un jour à un autre, d'un·e analyste à un
 2171 autre, d'un équipement à un autre, etc. Il n'est pas nécessaire d'étudier individuellement ces effets.
 2172 L'emploi d'un plan d'expérience (matrice) est conseillé.

2173 *III.2.6.3. Reproductibilité*

2174 La reproductibilité est évaluée au moyen d'une étude interlaboratoire. Il convient de la considérer
 2175 dans le cas de la standardisation d'une procédure analytique (pour l'introduction de nouvelles
 2176 procédures dans les pharmacopées, par exemple). Ces données ne font pas partie du dossier de
 2177 demande d'AMM.

2178 *III.2.6.4. Recommandations sur les données à fournir*

2179 Pour chaque type de fidélité étudié, il convient d'indiquer l'écart type, l'écart type relatif (coefficient
 2180 de variation) et les intervalles de confiance.

2181 **III.2.7. Limite de détection**

2182 Plusieurs approches sont possibles pour déterminer la limite de détection, selon que la procédure
 2183 considérée est instrumentale ou non. D'autres approches que celles décrites ci-dessous peuvent être
 2184 acceptables.

2185 *III.2.7.1. Évaluation visuelle*

2186 Une évaluation visuelle peut être utilisée pour les méthodes non instrumentales, mais également
 2187 pour les méthodes instrumentales.

2188 La limite de détection est déterminée par analyse d'échantillons contenant la substance à analyser à
 2189 des concentrations connues, puis par détermination de la concentration minimale à laquelle une
 2190 détection fiable de cette substance est possible.

2191 *III.2.7.2. Rapport signal/bruit*

2192 Cette approche n'est applicable qu'aux procédures analytiques caractérisées par l'existence d'un
 2193 bruit par rapport à la ligne de base. La détermination du rapport signal/bruit est effectuée par
 2194 comparaison des signaux respectivement mesurés avec des échantillons contenant la substance à
 2195 analyser à des concentrations (faibles) connues et avec des blancs, puis par détermination de la
 2196 concentration minimale à laquelle une détection fiable de cette substance est possible. Un rapport
 2197 signal/bruit de 3:1 à 2:1 est généralement acceptable.

2198 *III.2.7.3. Écart type des réponses et pente*

2199 La limite de détection (LD) peut être exprimée par la relation :

$$2200 \quad LD = \frac{3,3\sigma}{S}$$

2201 σ = écart type de la réponse,

2202 S = pente de la courbe d'étalonnage.

2203 La pente S peut être estimée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la substance à analyser.
 2204 L'estimation de σ peut être effectuée par différentes méthodes, par exemple :

- 2205 • Méthode de l'écart type du blanc. On mesure la réponse correspondant au « bruit de fond »
 2206 analytique en analysant un nombre approprié d'échantillons à blanc et en calculant l'écart

- 2207 type des réponses obtenues.
- 2208 • Méthode de la courbe d'étalonnage. Une courbe d'étalonnage spécifique est établie avec
- 2209 des échantillons contenant la substance à analyser dans des quantités de l'ordre de grandeur
- 2210 de la LD. On peut alors utiliser, comme écart type, l'écart type résiduel d'une droite de
- 2211 régression ou l'écart type des ordonnées à l'origine des droites de régression.

2212 *III.2.7.4. Recommandations sur les données à fournir*

2213 Il convient d'indiquer la limite de détection et la méthode utilisée pour la déterminer.

2214 Lorsque l'estimation de la limite de détection est obtenue par calcul ou par extrapolation, cette

2215 estimation peut être validée par analyse indépendante d'un nombre approprié d'échantillons de

2216 concentration égale à la limite de détection ou voisine de cette limite.

2217 III.2.8. Limite de quantification

2218 Plusieurs approches sont possibles pour déterminer la limite de quantification, selon que la

2219 procédure considérée est instrumentale ou non instrumentale. D'autres approches que celles

2220 décrites ci-dessous peuvent être acceptables.

2221 *III.2.8.1. Évaluation visuelle*

2222 Une évaluation visuelle peut être utilisée pour les méthodes non instrumentales, mais également

2223 pour les méthodes instrumentales.

2224 La limite de quantification est déterminée par analyse d'échantillons contenant la substance à

2225 analyser à des concentrations connues, puis par détermination de la concentration minimale à

2226 laquelle la quantification de cette substance est possible avec une exactitude et une fidélité

2227 acceptables.

2228 *III.2.8.2. Rapport signal/bruit*

2229 Cette approche n'est applicable qu'aux procédures analytiques caractérisées par l'existence d'un

2230 bruit par rapport à la ligne de base. La détermination du rapport signal/bruit est effectuée par

2231 comparaison des signaux respectivement mesurés avec des échantillons contenant la substance à

2232 analyser à des concentrations (faibles) connues et avec des blancs, puis par détermination de la

2233 concentration minimale à laquelle une quantification fiable de cette substance est possible. Le

2234 rapport signal/bruit type est de 10:1.

2235 *III.2.8.3. Écart type des réponses et pente*

2236 La limite de quantification (LQ) peut être exprimée par la relation :

2237
$$LQ = \frac{10\sigma}{S}$$

2238 σ = écart type de la réponse,

2239 S = pente de la courbe d'étalonnage.

2240 La pente S peut être estimée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la substance à analyser.

2241 L'estimation de σ peut être effectuée par différentes méthodes, par exemple :

- 2242 • Méthode de l'écart type du blanc. On mesure la réponse correspondant au « bruit de fond »
 2243 analytique en analysant un nombre approprié d'échantillons à blanc et en calculant l'écart
 2244 type des réponses obtenues.
- 2245 • Méthode de la courbe d'étalonnage. Une courbe d'étalonnage spécifique est établie avec
 2246 des échantillons contenant la substance à analyser dans des quantités de l'ordre de grandeur
 2247 de la LQ. On peut alors utiliser, comme écart type, l'écart type résiduel d'une droite de
 2248 régression ou l'écart type des ordonnées à l'origine des droites de régression.

2249 *III.2.8.4. Recommandations sur les données à fournir*

- 2250 Il convient d'indiquer la limite de quantification et la méthode utilisée pour la déterminer.
 2251 L'estimation obtenue doit être validée par analyse d'un nombre approprié d'échantillons de
 2252 concentration égale à la limite de quantification ou voisine de cette limite.

2253 **III.2.9. Robustesse**

- 2254 Recommandée lors de la phase de développement de la procédure analytique, l'évaluation de la
 2255 robustesse dépend du type de procédure considéré. Son objectif est de démontrer la fiabilité de l'analyse
 2256 lors de l'introduction de variations délibérées de différents paramètres.

- 2257 Si les mesures sont sensibles aux variations des conditions d'analyse, il convient de maintenir ces
 2258 conditions constantes ou d'introduire un avertissement dans la description de la procédure.
 2259 L'évaluation de la robustesse doit notamment conduire à l'établissement d'une série de paramètres
 2260 de conformité du système (essai de résolution, par exemple) permettant de s'assurer que la validité
 2261 de la procédure analytique est maintenue à chaque application.

- 2262 Les variations types sont les suivantes :

- 2263 • stabilité des solutions soumises à l'analyse,
- 2264 • utilisation d'équipements différents,
- 2265 • intervention d'analystes différent·es.

- 2266
- 2267 Dans le cas de la CL, les variations types sont les suivantes :

- 2268 • influence des variations du pH de la phase mobile,
- 2269 • influence des variations de la composition de la phase mobile,
- 2270 • emploi de différentes colonnes (lots et/ou fournisseurs différents),
- 2271 • température,
- 2272 • débit.

- 2273
- 2274 Dans le cas de la CPG, les variations types sont les suivantes :

- 2275 • emploi de différentes colonnes (lots et/ou fournisseurs différents),
- 2276 • température,
- 2277 • débit.

2278

2279 III.2.10. Vérification de la conformité du système

2280 La vérification de la conformité du système fait partie intégrante de nombreuses procédures
 2281 analytiques. Les essais effectués reposent sur l'idée que l'équipement, l'électronique, les opérations
 2282 analytiques et les échantillons à analyser constituent un système global pouvant être évalué comme
 2283 tel. Les paramètres de conformité du système à établir dépendent du type de procédure analytique
 2284 sur lequel porte la validation (pour en savoir plus, voir les pharmacopées).

2285

2286 III.3 APPLICATION SPÉCIFIQUE AUX PROCÉDURES ANALYTIQUES 2287 UTILISÉES DANS LA PH. EUR.

2288 Les parties suivantes décrivent un certain nombre de points importants pour la validation de
 2289 procédures analytiques s'appuyant sur des techniques analytiques spécifiques. Les indications qui
 2290 y figurent viennent en complément des chapitres généraux de la Ph. Eur. et des exigences de
 2291 validation précédemment décrites (documents ICH).

2292 III.3.1. Pouvoir rotatoire (2.2.7)

2293 *III.3.1.1. Introduction*

2294 Il convient de choisir le solvant de façon à obtenir un angle de rotation aussi élevé que possible. La
 2295 stabilité de l'angle de rotation de la solution doit être vérifiée sur un intervalle de temps d'au moins
 2296 2 h. Si besoin est, l'emploi d'une solution récemment préparée peut être spécifié. Dans certains cas
 2297 exceptionnels, il peut être nécessaire de prescrire une phase d'équilibre avant la réalisation de
 2298 l'essai. Chaque fois que possible, l'utilisation d'une longueur d'onde correspondant à la raie D du
 2299 sodium (589 nm) est prescrite.

2300 *III.3.1.2. Identification*

2301 Lorsque la substance examinée est un énantiomère, le pouvoir rotatoire spécifique est utilisé pour
 2302 l'identification.

2303 S'il sert uniquement à l'identification, le résultat n'a pas besoin d'être calculé par rapport à la
 2304 substance desséchée ou à la substance exempte de solvant. Les limites spécifiées doivent tenir
 2305 compte de toute variation de teneur ou de pureté observée avec des échantillons de différentes
 2306 origines satisfaisant à la monographie.

2307 *III.3.1.3. Essai*

2308 Le pouvoir rotatoire spécifique peut être utilisé pour vérifier la pureté d'un énantiomère. Cette
 2309 méthode est toutefois moins sensible que la CL chirale. Lorsqu'il s'agit de limiter un seul
 2310 énantiomère par mesure du pouvoir rotatoire spécifique, il doit être démontré que, dans les
 2311 conditions de l'essai, cet énantiomère possède une activité optique suffisante pour pouvoir être
 2312 détecté. Le résultat est calculé par rapport à la substance desséchée ou à la substance exempte de
 2313 solvant. Il convient, si possible, de déterminer l'influence des impuretés potentielles. Les limites
 2314 spécifiées pour le pouvoir rotatoire spécifique doivent tenir compte de la teneur admise en impuretés. En
 2315 l'absence d'informations sur l'activité optique des substances apparentées et lorsque l'on ne dispose

2316 pas des substances apparentées en quantité suffisante, les limites sont souvent fixées,
2317 conventionnellement, à $\pm 5\%$ autour de la valeur moyenne obtenue pour des échantillons
2318 satisfaisant à la monographie. Il est souhaitable d'examiner, chaque fois que possible, des
2319 échantillons de différentes origines. Il est également utile d'examiner des échantillons proches de la
2320 date de péremption, afin d'obtenir des informations sur l'effet du vieillissement naturel.

2321 La mesure de l'angle de rotation peut servir à vérifier le caractère racémique d'une substance. Dans
2322 ce cas, l'usage est de prescrire des limites de $-0,10^\circ$ à $+0,10^\circ$.

2323 Il convient, si possible, de démontrer que, dans les conditions de l'essai, l'énantiomère possède une
2324 activité optique suffisante pour pouvoir être détecté.

2325

2326 III.3.2. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (2.2.25)

2327 Il est nécessaire, dans tous les cas, de démontrer que les conditions opératoires utilisées (nature et
2328 qualité des solvants employés, pH de la solution, etc.) sont appropriées.

2329 Sous sa forme classique, la spectrophotométrie UV est une technique possédant un pouvoir de
2330 discrimination limité, mais il est possible de l'améliorer en utilisant les techniques de dérivée
2331 première et seconde.

2332 *III.3.2.1. Identification*

2333 La spectrophotométrie UV est rarement la seule procédure décrite pour l'identification. Lorsqu'elle
2334 est utilisée dans le cadre d'une série d'identifications, son pouvoir de discrimination doit être
2335 démontré par comparaison du spectre de la substance à analyser et de celui de substances similaires.
2336 Il est possible d'obtenir un meilleur pouvoir de discrimination en utilisant les rapports d'absorbance
2337 plutôt que les valeurs directes de l'absorbance.

2338 *III.3.2.2. Essai limite*

2339 Lorsque la spectrophotométrie UV est utilisée pour un essai limite, il doit être démontré que, à la
2340 longueur d'onde de mesure, la contribution à l'absorbance mesurée de la substance que l'on veut
2341 limiter est suffisante. L'absorbance correspondant à la concentration limite de la substance à limiter
2342 doit être établie.

2343 *III.3.2.3. Dosage*

2344 Lorsque la spectrophotométrie UV est utilisée pour le dosage, il faut évaluer la contribution à
2345 l'absorbance des impuretés connues. L'emploi, dans les dosages, de valeurs de l'absorbance
2346 spécifique est déconseillé, mais est possible dans les essais de dissolution décrits dans les
2347 monographies de médicaments (voir Guide technique pour l'élaboration des monographies de
2348 médicaments contenant des substances actives chimiquement définies). Si des valeurs de
2349 l'absorbance spécifique sont indiquées, elles doivent être évaluées au moyen d'une étude
2350 interlaboratoire portant sur un lot de pureté connue. La pureté doit être estimée par diverses
2351 techniques, dont des techniques séparatives et des techniques absolues.

2352 III.3.3. Essais limites non instrumentaux

2353 *III.3.3.1. Aspect de la solution (2.2.1 et 2.2.2)*

2354 Ces essais visuels simples consistent à comparer la coloration (ou l'opalescence) de la solution à
 2355 examiner à celle d'une série de solutions témoins. En général, la solution à examiner doit être
 2356 limpide et incolore. L'objectif de ces essais est d'évaluer globalement la pureté de la substance.
 2357 Lorsqu'un certain degré de coloration (ou d'opalescence) est autorisé, la nature des impuretés et la
 2358 concentration à laquelle correspond ce degré de coloration (ou d'opalescence) sont souvent
 2359 inconnues. La validation repose alors sur l'examen de données de lots fournies par le ou les
 2360 fabricants. En revanche, si l'impureté qui est à l'origine de l'opalescence ou de la coloration est
 2361 connue, il est parfois possible de valider l'essai visuel par comparaison à une technique analytique
 2362 plus sophistiquée.

2363 *III.3.3.2. Acidité ou alcalinité*

2364 Il s'agit d'un essai de pureté globale d'une substance. Non spécifique, il est utilisé pour contrôler
 2365 les impuretés protéolytiques. Les règles d'application de cet essai sont décrites plus haut.

2366 *III.3.3.3. Essais limites des anions/cations (2.4)*

2367 Il s'agit d'essais simples et rapides, mais dont il doit être démontré, par des études de recouvrement
 2368 et/ou par comparaison avec d'autres techniques plus sophistiquées, qu'ils donnent des résultats
 2369 corrects.

2370 **Cendres sulfuriques (2.4.14).** L'essai des cendres sulfuriques est destiné au dosage global des
 2371 cations présents dans les substances organiques, mais n'est évidemment pas applicable aux sels
 2372 inorganiques de substances organiques acides. La limite spécifiée est, en général, de 0,1 %. Cet
 2373 essai gravimétrique sert à limiter la teneur en cations étrangers à un niveau approprié, constituant
 2374 une indication de la qualité de la production. Il peut être considéré comme suffisamment bien établi
 2375 pour ne pas nécessiter de validation complémentaire.

2376 **Réactions colorées ou réactions de précipitation.** Des essais limites sont également décrits pour des
 2377 cations et anions particuliers ; ils reposent sur la comparaison visuelle d'une coloration ou d'une
 2378 opalescence. Il est essentiel de démontrer les points suivants :

- 2379 • la coloration ou l'opalescence est visible à la concentration cible (limite),
- 2380 • le recouvrement de l'ion ajouté est le même dans la solution à examiner et dans les
 2381 solutions témoins (vérification par observation visuelle et, si possible, par mesure
 2382 d'absorbance),
- 2383 • la réponse est suffisamment discriminante sur l'intervalle encadrant la valeur cible (50 %,
 2384 100 % et 150 % de la valeur cible), ce qui peut être vérifié par mesure de l'absorbance à
 2385 la longueur d'onde appropriée du spectre visible,
- 2386 • une expérience de recouvrement à la concentration cible est effectuée six fois et l'écart
 2387 type relatif (ETR) de répétabilité est calculé. Il est souhaitable que le recouvrement soit
 2388 supérieur à 80 % et l'ETR de répétabilité inférieur ou égal à 20 %.

2390 Il est recommandé, le cas échéant, de comparer les résultats respectivement obtenus à partir d'une
 2391 étude de recouvrement menée à l'aide de la procédure d'essai limite proposée, doublée d'une
 2392 analyse quantitative réalisée par une technique différente (spectrophotométrie d'absorption

2393 atomique pour les cations ou chromatographie ionique pour les anions, par exemple). Les résultats
2394 obtenus dans les deux cas doivent être comparables.

2395 III.3.4. Spectrométrie d'absorption atomique (2.2.23)

2396 La spectrométrie d'absorption atomique est exclusivement utilisée dans des essais portant sur le
2397 dosage d'éléments spécifiques, présents dans les substances en tant qu'impuretés. Les paramètres
2398 de validation suivants sont particulièrement pertinents pour les méthodes de spectrométrie
2399 atomique. Des paramètres de validation supplémentaires figurent dans le chapitre général.

2400 *III.3.4.1. Spécificité*

2401 Cette technique est, en principe, spécifique de l'élément à doser, si l'on opère avec une source et à
2402 une longueur d'onde appropriées, puisque l'émission ou l'absorption du rayonnement par l'atome
2403 s'effectue à des raies spectrales discrètes. Néanmoins, des interférences dues à des facteurs optiques
2404 et/ou chimiques peuvent se produire. Avant de s'engager dans le programme de validation, il est
2405 donc important d'identifier ces interférences et, si possible, de réduire leurs effets par des moyens
2406 appropriés.

2407 Ces interférences peuvent entraîner une erreur systématique, si la procédure d'étalonnage
2408 employée est directe, ou affecter la sensibilité de la technique. Les principales sources d'erreur en
2409 spectrométrie atomique sont associées à l'étalonnage et à l'interférence de la matrice (il faut veiller
2410 à éviter les effets mémoire).

2411 *III.3.4.2. Étalonnage*

2412 Des solutions de référence aqueuses à différentes concentrations, échelonnées sur l'intervalle
2413 d'étalonnage, sont préparées et analysées.

2414 Le nombre de concentrations à utiliser dépend du modèle d'étalonnage employé. Pour démontrer
2415 l'applicabilité du modèle de régression linéaire, il convient de préparer des solutions de référence à
2416 quatre concentrations au moins. L'emploi d'une courbe de régression parabolique requiert
2417 également quatre concentrations au moins. Ces concentrations sont, de préférence, réparties de
2418 façon uniforme sur l'intervalle d'étalonnage.

2419 En règle générale, il est recommandé d'effectuer cinq mesures au moins pour chaque concentration.

2420 Les problèmes liés à l'étalonnage peuvent souvent être détectés visuellement. Néanmoins, les
2421 représentations graphiques ne constituent pas des preuves suffisantes de l'adéquation de la
2422 procédure d'étalonnage.

- 2423 • Le graphique des absorbances mesurées en fonction de la concentration est établi, ainsi
2424 que la courbe représentant la fonction d'étalonnage et l'intervalle de confiance
2425 correspondant. Cette courbe doit présenter un bon ajustement aux données.
- 2426 • Le graphique des résidus (écarts entre l'absorbance mesurée et l'absorbance estimée) en
2427 fonction de la concentration est établi. La procédure d'étalonnage utilisée est satisfaisante
2428 si les résidus présentent une distribution aléatoire autour de l'axe des abscisses.

2430 Lorsque la variance du signal croît avec la concentration, ce qui est souvent le cas en spectrométrie
2431 atomique et peut être détecté par la représentation graphique des résidus ou par un test *t* unilatéral,

2432 l'emploi d'un modèle pondéré permet une meilleure estimation. Pour trouver le modèle le plus
2433 adéquat, on applique aux données des fonctions de pondération linéaire et quadratique.

2434 Pour appliquer un modèle pondéré, le graphique des résidus pondérés (résidu multiplié par le
2435 coefficient de pondération) en fonction de la concentration est établi :

- 2436 • le graphique des absorbances mesurées comme fonction pondérée de la concentration est
2437 établi, ainsi que la courbe représentant la fonction d'étalonnage et l'intervalle de confiance
2438 correspondant,
- 2439 • le graphique des résidus pondérés en fonction de la concentration est établi.

2440

2441 Il doit être démontré que le modèle présente un bon ajustement aux données. L'application d'un
2442 modèle de régression linéaire exige de vérifier la linéarité de la droite d'étalonnage.

2443 *III.3.4.3. Effets de matrice*

2444 Lorsque des solutions de référence aqueuses sont utilisées pour estimer la fonction d'étalonnage,
2445 il est nécessaire de vérifier que les sensibilités obtenues avec la solution échantillon et avec les
2446 solutions aqueuses sont similaires. Si le modèle d'étalonnage appliqué est linéaire, il est possible
2447 de détecter d'éventuelles différences de sensibilité en comparant les pentes obtenues avec un ajout
2448 dosé et les courbes d'étalonnage des solutions de référence aqueuses. La qualité de l'estimation de
2449 la pente des deux droites de régression dépend du nombre et de la distribution des points de mesure.
2450 Il est, par conséquent, recommandé d'établir les deux droites de régression à partir d'un nombre de
2451 points de mesure suffisant (toujours > 5) et de concentrer principalement ces points aux bornes de
2452 l'intervalle d'étalonnage.

2453 Les pentes respectives de la droite obtenue avec un ajout dosé et de la droite d'étalonnage en milieu
2454 aqueux sont comparées, par l'application d'un test *t*, pour vérifier si ces deux pentes présentent une
2455 différence significative. Il est alors possible d'appliquer le Procédé II (ajouts dosés) si cette
2456 différence est significative ou le Procédé I (étalonnage direct) si elle ne l'est pas.

2457 *III.3.4.4. Limites de détection et de quantification (estimation fondée sur l'écart type du blanc)*

2458 Pour obtenir une estimation des limites de détection et de quantification, des blancs représentatifs
2459 sont préparés et analysés. On utilise, de préférence, des blancs-matrice, qui contiennent tous les
2460 composants de l'échantillon, à l'exception de la substance à analyser. Toutefois, à défaut de blancs-
2461 matrice, il est possible d'utiliser des blancs-réactif, qui contiennent tous les réactifs et sont préparés
2462 de la même manière que la solution échantillon.

2463 Les autres aspects du programme de validation sont traités plus haut.

2464 III.3.5. Techniques séparatives

2465 Les différentes techniques chromatographiques (CCM, CPG et CL) peuvent être mises en œuvre
2466 dans les monographies, dans les sections IDENTIFICATION, ESSAI (pour la limitation des substances
2467 apparentées) et DOSAGE (pour le dosage de la substance active). Les procédures analytiques doivent
2468 être validées selon les principes décrits plus haut, mais il faut également tenir compte de certains
2469 aspects spécifiques aux différentes techniques chromatographiques. Ces derniers sont décrits ci-
2470 dessous.

2471 *III.3.5.1. Chromatographie sur couche mince (2.2.27)*

2472 Cette technique chromatographique est largement employée dans la Ph. Eur. pour l'identification
 2473 (par comparaison à une substance de référence) et pour la limitation des impuretés (avec ou sans
 2474 substance de référence). Son application à l'analyse quantitative des impuretés exige l'emploi
 2475 d'instruments appropriés. Dans la plupart des cas, la silice est utilisée comme phase stationnaire,
 2476 mais le recours à des phases inversées (gel de silice silanisé, par exemple) ou à des phases
 2477 stationnaires à base de cellulose est également possible. Les caractéristiques suivantes sont
 2478 néanmoins communes à l'ensemble des techniques de CCM, qu'elles soient utilisées pour une
 2479 identification ou pour un essai des substances apparentées.

- 2480 • Spécificité : il est admis que, pour les identifications, cette technique n'assure pas à elle
 2481 seule la spécificité, mais qu'on peut, en revanche, en attendre une bonne discrimination.
 2482 Elle doit être complétée par d'autres techniques qui assurent concurremment la spécificité. La
 2483 sélectivité peut être insuffisante pour certains essais limites, auquel cas il convient de
 2484 décrire un ou plusieurs essais complémentaires permettant de contrôler les impuretés non
 2485 séparées. Le pouvoir de discrimination doit être établi. Pour les identifications, il est parfois
 2486 possible de l'améliorer en utilisant un réactif de pulvérisation qui permet de différencier
 2487 des substances similaires d'après leur coloration.
- 2488 • Phase stationnaire : il doit être démontré que l'essai est applicable avec des plaques de
 2489 même type, mais d'origine différente, et éviter si possible les séparations qui ne sont
 2490 réalisables qu'avec un type de plaque particulier.
- 2491 • Essai de performance (essai de conformité du système) : un essai de ce type est
 2492 généralement effectué pour vérifier la séparation de deux substances ayant un temps de
 2493 migration voisin, la substance elle-même et une substance proche (couple critique). Il doit
 2494 être démontré que la séparation de ces deux substances constitue une garantie de la conformité
 2495 du système chromatographique. Ce critère de conformité est essentiel dans le cas des essais
 2496 des substances apparentées.

2498 D'autres aspects sont également à étudier lorsqu'une CCM est utilisée pour un essai des substances
 2499 apparentées :

- 2500 • Détection : dans les cas d'un essai des substances apparentées, l'emploi de réactifs de
 2501 pulvérisation spécifiques doit être évité, sauf si l'essai est destiné à limiter une impureté
 2502 désignée, au moyen d'une substance de référence.
- 2503 • Limite de détection : lors de l'emploi d'une procédure instrumentale quantitative, l'une
 2504 des méthodes décrites pour le calcul de la limite de détection s'applique. Si l'on utilise une
 2505 méthode visuelle, il doit être démontré que la quantité correspondant à la limite spécifiée
 2506 est détectable.
- 2507 • Facteurs de réponse : si les impuretés connues sont disponibles, il est démontré que leur
 2508 facteur de réponse est du même ordre de grandeur que celui de la substance elle-même,
 2509 dans les conditions de détection indiquées. Pour un essai limite, des différences de réponse
 2510 peuvent être mises en évidence par comparaison des limites de détection visuelles.
- 2511 • Limite de quantification, linéarité, intervalle de mesure et répétabilité : des données
 2512 relatives à ces paramètres sont également nécessaires lorsqu'une procédure de CCM
 2513 quantitative instrumentale est employée.

2514 *III.3.5.2. Chromatographie liquide (2.2.29)*

2515 La CL est généralement utilisée pour limiter la teneur en impuretés d'une substance (à l'aide d'un
2516 étalon externe, qui est généralement une dilution appropriée de la solution à examiner), pour doser
2517 une substance (à l'aide d'un étalon externe) et parfois comme moyen d'identification, par renvoi à
2518 l'une des procédures décrites ci-dessus. Un certain nombre d'aspects spécifiques à la CL appellent
2519 une attention particulière.

2520 *III.3.5.2.a. Identification*

2521 Il est admis que, pour les identifications, cette technique n'assure pas à elle seule la spécificité,
2522 mais qu'on peut, en revanche, en attendre une bonne discrimination. Elle doit être complétée par
2523 d'autres techniques qui assurent concurremment la spécificité. Le pouvoir de discrimination doit être
2524 établi au moyen des temps de rétention, des rétentions relatives ou du coefficient de distribution
2525 massique de la substance elle-même et de substances similaires. Ces informations doivent être
2526 fournies pour une gamme de phases stationnaires de même type.

2527 *III.3.5.2.b. Essai limite*

- 2528 • Spécificité :
 - 2529 o *Pouvoir discriminant de la séparation* : il doit être démontré que le système permet une
 - 2530 séparation adéquate des impuretés connues et potentielles, par rapport à la substance
 - 2531 elle-même et, si possible, entre elles. La spécificité peut être assurée par une détection
 - 2532 par spectrométrie de masse. Si une ou plusieurs impuretés ne sont pas séparées de la
 - 2533 substance, elles doivent être contrôlées par une autre procédure. Les temps de
 - 2534 rétention, les rétentions relatives ou les coefficients de distribution massique de la
 - 2535 substance et des impuretés doivent être enregistrés. Ces informations doivent être
 - 2536 fournies pour une gamme de phases stationnaires de même type.
 - 2537 o *Pouvoir discriminant du système de détection* : le choix du détecteur et des conditions
 - 2538 de détection employées doit être justifié (en faisant varier la longueur d'onde de
 - 2539 détection pour l'UV, par exemple), alors que la spécificité peut être assurée par une
 - 2540 détection par spectrométrie de masse.
- 2541 • Facteurs de réponse : il est essentiel de démontrer que la substance et les impuretés
- 2542 connues ont des facteurs de réponse du même ordre, pour la détection UV (à la longueur
- 2543 d'onde de détection), mais également pour d'autres méthodes de détection
- 2544 (conductimétrie, par exemple). Si une impureté connue possède un facteur de réponse
- 2545 supérieur à 1,2 ou inférieur à 0,8, par rapport à la substance à examiner, il peut être
- 2546 nécessaire d'appliquer des FC ou d'utiliser cette impureté comme étalon externe lorsque
- 2547 la limite proposée est égale ou supérieure à 0,1 %.
- 2548 • Limites de détection et de quantification : ces limites doivent être déterminées pour
- 2549 l'étalon externe, qui peut être une dilution de la substance à examiner ou une impureté
- 2550 connue. Lorsqu'un pic dû à une impureté est élué à proximité de celui de la substance,
- 2551 notamment si cette impureté est éluée après la substance, les limites de détection et de
- 2552 quantification doivent être déterminées sur cette impureté. L'une des méthodes de calcul
- 2553 de la limite de détection et de la limite de quantification est appliquée.
- 2554 • Stabilité : il convient de fournir des données de stabilité pour établir la durée de
- 2555 conservation des solutions témoins et de la solution à examiner.
- 2556 • Recouvrement : lorsqu'un procédé d'extraction est employé, une étude de recouvrement
- 2557 doit être effectuée au moyen d'impuretés connues disponibles, dans des conditions
- 2558 optimales, et les résultats doivent être enregistrés. Il doit être démontré que le

- 2559 recouvrement présente une exactitude et une fidélité acceptables.
- 2560 • Dérivatisation : lorsqu'une dérivatisation pré- ou post-colonne est effectuée, il est
- 2561 important d'établir les conditions optimales de réaction (temps et température), ainsi que
- 2562 d'étudier la stabilité des produits dérivés dans les conditions normales d'emploi.
- 2563 • Essai de conformité du système : comme décrit pour la CCM. L'emploi du rapport S/N
- 2564 n'est nécessaire que lorsque la limite de détection et la limite spécifiée sont voisines.
- 2565

2566 III.3.5.2.c. Dosage

- 2567 • Spécificité : cette caractéristique est souhaitable, mais non indispensable si l'impureté
- 2568 interférente est présente à faible teneur et est contrôlée par un autre essai.
- 2569 • Essai de conformité du système : comme décrit dans le chapitre
- 2570 général 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique*. Le tableau 2.2.46.-1 peut
- 2571 être étoffé comme suit :

	Nombre d'injections individuelles				
	3	4	5	6	10
B (%)	Écart type relatif maximal admis				
1,0	0,21	0,30	0,37	0,42	0,60
1,5	0,31	0,44	0,55	0,64	0,90
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85	1,20
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06	1,51
3,0	0,62	0,89	1,10	1,27	1,81
3,5	0,72	1,04	1,22	1,48	2,11
4,0	0,83	1,19	1,46	1,70	2,41
4,5	0,93	1,33	1,65	1,91	2,71
5,0	1,04	1,48	1,83	2,12	3,01

2572

2573 Les essais limites et dosages doivent être validés selon les indications données plus haut pour la

2574 linéarité, la répétabilité et la reproductibilité (voir partie III.2).

2575 III.3.5.3. *Chromatographie en phase gazeuse (2.2.28)*

2576 III.3.5.3.a. Identification

2577 Spécificité : comme décrit pour la CL.

2578 III.3.5.3.b. Essai limite

- 2579 • Spécificité : comme décrit pour la CL.
- 2580 • Facteurs de réponse (voir CL) : les facteurs de réponse relatifs par rapport à la substance
- 2581 elle-même doivent être indiqués. Ceci est particulièrement important lorsque l'on utilise
- 2582 des techniques de détection sélectives (capture d'électrons, détection des composés azotés
- 2583 et phosphatés, etc.).
- 2584 • Limites de détection et de quantification : comme décrit pour la CL.

- 2585 • Stabilité : comme décrit pour la CL.
- 2586 • Dérivatisation : comme décrit pour la CL.
- 2587 • Étalon interne : il doit être démontré que, dans les conditions chromatographiques
- 2588 utilisées, le pic dû à l'étalon interne n'interfère pas avec ceux des impuretés ou de la
- 2589 substance elle-même.
- 2590 • Paramètres de recouvrement : comme décrit pour la CL.
- 2591

2592 III.3.5.3.c. Essai de conformité du système

2593 Il convient de fournir une description détaillée des critères chromatographiques dont l'analyste doit
2594 s'assurer pour réaliser l'essai de façon satisfaisante :

- 2595 • Rapport S/N, généralement utilisé lorsque le signal est supérieur ou égal à la limite de
- 2596 détection.
- 2597 • Résolution entre les pics respectivement dus à la substance et à une impureté éluée à un
- 2598 temps voisin, ou entre les pics respectivement dus à la substance et à l'étalon interne. Il
- 2599 est également utile de préciser l'intervalle de valeurs acceptable pour le facteur de symétrie
- 2600 lorsqu'il diffère de celui spécifié dans le chapitre général 2.2.46, soit 0,8-1,8. Ce point est
- 2601 particulièrement important lorsque l'on emploie des colonnes remplies et que le pic d'une
- 2602 des impuretés à contrôler est élué immédiatement après le pic principal. La vérification
- 2603 des performances au moyen d'une colonne similaire, chaque fois que possible, est
- 2604 recommandée.
- 2605 • Technique à espace de tête, technique d'injection utilisée pour les substances hautement
- 2606 volatiles. Il est important de démontrer que la température et le temps de préchauffage du
- 2607 flacon d'injection assurent la réalisation des conditions d'équilibre. Il convient également
- 2608 de démontrer l'existence ou l'absence de tout effet de matrice. Pour valider les conditions
- 2609 d'espace de tête, il est notamment possible d'effectuer des extractions multiples (l'espace
- 2610 de tête est évacué après chaque injection et le flacon rééquilibré avant réinjection de la
- 2611 phase gazeuse). La condition préalable à l'obtention de bonnes conditions est l'existence
- 2612 d'une relation linéaire, avec un coefficient de régression de 1,0, entre les valeurs
- 2613 logarithmiques de la surface du pic de la substance à analyser et le nombre d'extractions.
- 2614 Le problème des effets de matrice peut être surmonté par la technique des ajouts dosés.
- 2615

2616 III.3.5.3.d. Dosage

- 2617 • Spécificité : comme décrit pour la CL.
- 2618 • Essai de conformité du système : comme décrit dans le chapitre général
- 2619 2.2.46. *Techniques de séparation chromatographique* (voir également partie III.3.5.2.c).
- 2620

2621 Il convient de valider les essais limites et dosages selon les indications données plus haut (voir
2622 partie III.2) pour la linéarité, la répétabilité et la reproductibilité.

2623 III.3.5.3.e. Identification et contrôle des solvants résiduels (2.4.24)

2624 La préparation des échantillons et les systèmes de CPG utilisés doivent être validés pour la
2625 substance à examiner selon les critères généraux applicables à la CPG, en portant une attention
2626 particulière aux critères suivants :

- 2627 • spécificité,

- 2628 • limites de quantification et de détection,
- 2629 • recouvrement,
- 2630 • répétabilité,
- 2631 • linéarité, pour les analyses quantitatives.

2632 III.3.6. Semi-microdosage de l'eau (2.5.12)

2633 Il existe dans le commerce divers réactifs Karl-Fischer. Il est donc important de s'assurer de
 2634 l'aptitude à l'emploi du réactif utilisé, par une procédure de validation (méthode des ajouts dosés,
 2635 par exemple).

2636 *Méthode des ajouts dosés*

2637 Déterminez la teneur en eau m_{H_2O} de l'échantillon dans les conditions proposées. Ajoutez ensuite à
 2638 l'échantillon, dans des conditions étanches, un volume approprié d'une solution titrée d'eau dans le
 2639 *méthanol R* et déterminez la teneur en eau m_i m_{H_2O} , en milligrammes d'eau. Répétez cette opération
 2640 au moins cinq fois.

2641 Calculez la droite de régression de la teneur en eau mesurée en fonction de la quantité d'eau ajoutée
 2642 (en valeurs cumulatives). Calculez la pente b , l'ordonnée à l'origine a et le point d'intersection d de
 2643 la droite extrapolée avec l'axe des abscisses.

2644 La pente b est acceptable si elle est comprise entre 0,975 et 1,025 (écart admis $\pm 2,5 \%$). Les
 2645 erreurs e_1 et e_2 sont inférieures à $\pm 2,5 \%$.

$$e_1 = \frac{a - m_{H_2O}}{m_{H_2O}} \times 100$$

$$e_2 = \frac{|d| - m_{H_2O}}{m_{H_2O}} \times 100$$

Calculez le recouvrement pour chacune des étapes d'addition d'eau. Le recouvrement moyen est acceptable s'il est compris entre 97,5 % et 102,5 %.

III.3.7. Titrages volumétriques (2.5.11, 2.2.19, 2.2.20)

Lors du développement d'une nouvelle procédure de dosage fondée sur un titrage volumétrique, il est recommandé de titrer, dans les conditions prescrites, au moins sept prises d'essai de masse différente, dans un ordre randomisé, de façon à obtenir des volumes au point final compris dans l'intervalle 20-90 % du volume de la burette utilisée. Les résultats obtenus font ensuite l'objet d'un traitement statistique et doivent satisfaire à un certain nombre de critères pour que la procédure de titrage soit acceptée.

L'erreur relative de lecture sur la masse pesée et sur le volume au point final doit être inférieure à 0,5 % des valeurs obtenues.

Les résultats, exprimés en volume au point final V_i en fonction de la masse m_i , font l'objet d'une analyse de régression linéaire. La droite de régression calculée est caractérisée par la pente b_{obs} , l'ordonnée à l'origine (obtenue par extrapolation) a_{obs} et la fidélité exprimée par l'écart type $\sigma(V)$.

Critère 1 – Erreur systématique (biais) proportionnelle

La pente calculée b_{obs} , qui prend en compte la concentration de la solution titrée utilisée, ne s'écarte pas de plus de 0,3 % (détermination potentiométrique) ou 0,5 % (détermination visuelle) de la

valeur théorique $b_{théor}$ donnée comme constante de titrage.

$$\left(\frac{b_{obs} - b_{théor}}{b_{théor}} \right) \times 100 \leq 0,3 \% \text{ (0,5 \% dans le cas d'une détermination visuelle)}$$

avec $b_{théor} = \frac{Z}{M_r \cdot C_r}$

où M_r est la masse moléculaire relative, Z le facteur stœchiométrique de la réaction chimique et C_r la concentration molaire du titrant.

Critère 2 – Erreur systématique (biais) additionnelle

L'ordonnée à l'origine a_{obs} obtenue par extrapolation est inférieure à 0,4 % (détermination potentiométrique) ou à 0,6 % (détermination visuelle) du volume de titrage attendu ou volume de titrage cible. Il arrive que ce critère ne soit pas satisfait si le titrage a été effectué trop rapidement (détermination potentiométrique) ou si l'indicateur utilisé n'était pas approprié (détermination visuelle).

$$\left(\frac{a_{obs}}{V_T} \right) \times 100 < 0,4 \% \text{ (0,6 \% dans le cas d'une détermination visuelle)}$$

où a_{obs} est l'ordonnée à l'origine de la droite de régression extrapolée et V_T le volume de titrage attendu ou volume de titrage cible.

Critère 3 – Fidélité (erreur statistique)

L'écart type estimé résiduel $\sigma(V)$ est inférieur à 0,3 % (détermination potentiométrique) ou à 0,5 % (détermination visuelle) du volume moyen consommé au point final lorsque l'on utilise la procédure de titrage à introduire dans la monographie.

$$\left(\frac{\sigma(V)}{V_T} \right) \times 100 < 0,3 \% \text{ (0,5 \% dans le cas d'une détermination visuelle)}$$

où $\sigma(V)$ est l'écart type estimé.

$$\sigma(V) = \sqrt{\frac{\sum (V_i - a_{obs} - b_{obs} m_i)^2}{n - 2}}$$

où V_i est le volume de titrage, m_i la masse de la prise d'essai et n le nombre de titrages effectués.

Critère 4 – Erreur relative pratique

Il peut arriver qu'une procédure de titrage ne satisfasse pas aux critères 1 et 2, mais présente un biais faible, acceptable, au volume de titrage cible (8 mL \pm 1 mL pour une burette de 10 mL). Dans ce cas, les critères 1 et/ou 2 ci-dessus n'étant pas satisfaits, calculez l'exactitude relative pour le volume de titrage cible.

$$\left| \left(\frac{a_{obs}}{V_T} + \frac{b_{obs} - b_{théor}}{b_{théor}} \right) \right| \times 100$$

Lorsque la procédure de titrage est bien établie, toutefois, il suffit de vérifier que la répétabilité et

l'exactitude du titrage (au minimum six répétitions) ne sont pas supérieures aux limites indiquées dans le tableau et dans l'arbre de décision ci-après.

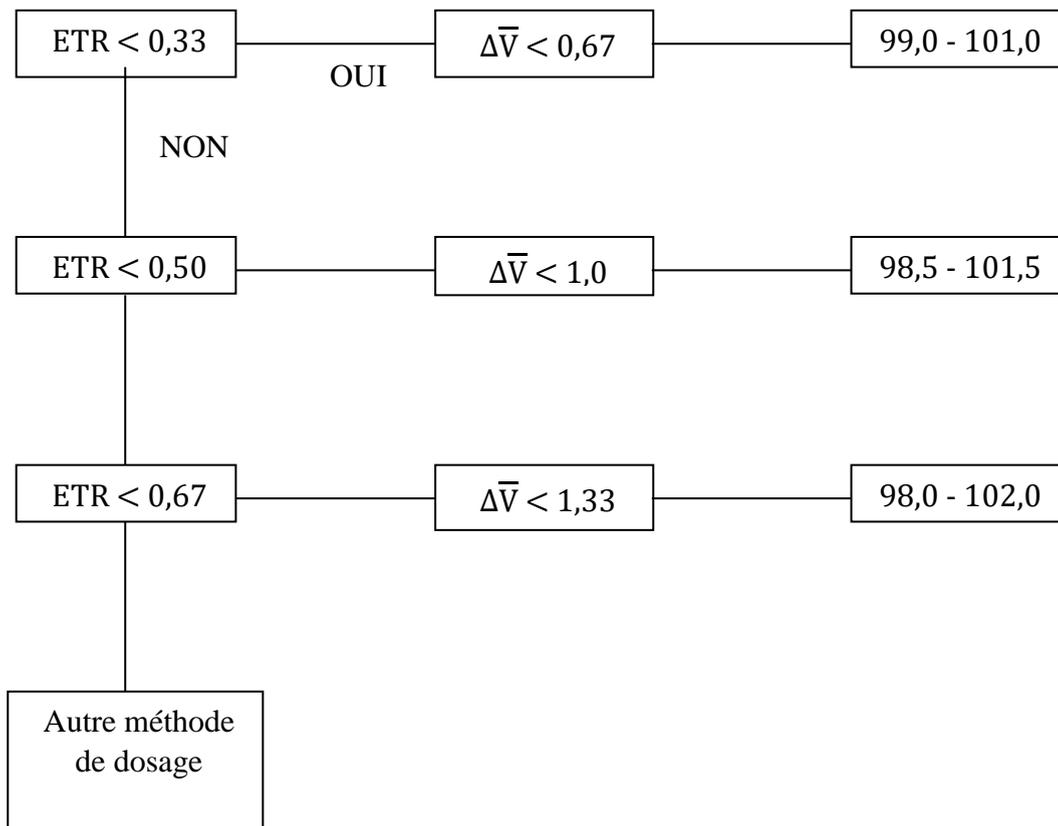
TYPE DE TITRAGE	LIMITES DE TENEUR (%)	RÉPÉTABILITÉ (ETR)	EXACTITUDE RELATIVE (%)
Acidobasique	± 1,0	0,33	± 0,67
Milieu non aqueux	± 1,0	0,33	± 0,67
Acide conjugué de la base	± 1,0	0,33	± 0,67
Redox	± 1,5	0,5	± 1,0
Argentométrique	± 1,5	0,5	± 1,0
Complexométrique	± 2,0	0,67	± 1,33

Les valeurs indiquées dans le tableau sont données à titre informatif. Il peut parfois être démontré que des limites plus strictes sont applicables. Le recours à un titrage volumétrique n'est envisageable que lorsqu'il a été démontré que la teneur en impuretés est faible ; dans le cas contraire, il convient de recourir à d'autres méthodes de dosage.

Arbre de décision pour la validation des titrages volumétriques

Répétabilité : écart type relatif (ETR) sur six répétitions (n = 6)

$$\text{Exactitude relative : } \Delta \bar{V} = \frac{\bar{V} - V_{\text{théorique}}}{V_{\text{théorique}}}$$



III.3.8. Identification des peptides par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (2.2.64)

Il est souhaitable que la validation de la procédure porte notamment sur les paramètres suivants :

- Stabilité du processus d'obtention des spectres. Il s'agit de démontrer que, dans des limites raisonnables, le spectre obtenu est indépendant de la quantité d'échantillon, de son pH, de la température de travail (erreur d'étalonnage ou modifications liées au réétalonnage) ou d'un réglage erroné de certains paramètres d'acquisition spectrale, comme la largeur d'impulsion. Il convient de tenir compte de l'effet de légères variations des procédures de préparation des échantillons (échange de deutérium, par exemple). L'analyse de lots différents du produit à examiner est nécessaire pour démontrer la stabilité du processus d'obtention des spectres.
- Spécificité : il convient de comparer le spectre de l'échantillon à analyser à celui de produits similaires traités sur le même site de fabrication. Cette comparaison doit établir son caractère distinctif et l'existence de différences spectrales manifestes. Les spectres des impuretés potentielles (particulièrement des impuretés spécifiées) peuvent être évalués. Il peut s'agir de formes désamidées, de variantes contenant un « mauvais » énantiomère d'un acide aminé ou de formes de séquence incorrecte. L'approche à suivre est similaire à celle utilisée pour évaluer la spécificité des essais d'identification par chromatographie.
- Autres facteurs de variabilité :
 - o la variabilité liée à l'opérateur·trice, normalement faible ; il convient de la confirmer si plusieurs opérateurs·trices doivent effectuer l'essai ;
 - o la dérive temporelle du spectromètre, probablement négligeable.

Une revalidation mineure est nécessaire après toute intervention de maintenance sur les sondes ou sur la console, mise à niveau logicielle ou acquisition de nouveaux composants matériels. Elle peut souvent être réalisée à l'aide d'échantillons de référence fournis avec le spectromètre.

www.edqm.eu

Le Conseil de l'Europe est la principale organisation de défense des droits de l'homme du continent. Il comprend 46 États membres, dont tous les membres de l'Union européenne. La Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé (EDQM) est une direction du Conseil de l'Europe qui a pour mission de contribuer au droit essentiel des êtres humains d'avoir accès à des médicaments et des soins de santé de bonne qualité, ainsi que de promouvoir et de protéger la santé publique.