

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE  
MODULE : ANALYSE ET CONTROLE DES MEDICAMENTS

# Chapitre VII. Méthodes de contrôle des Métaux lourds dans les produits Pharmaceutiques

---

Dr. FIZIR Meriem

2020-2019

## I : Généralités sur les Métaux

### 1-Définition

Par définition un métal est une matière naturelle, le plus souvent, son origine est un minéral.

Il possède des caractéristiques particulières :

- Il est doté d'un éclat particulier.
- C'est un bon conducteur de chaleur et d'électricité,
- Il possède des caractéristiques de dureté et de malléabilité,
- En contact avec les acides donne un sel, et en contact avec l'oxygène donne un oxyde excepté les métaux nobles
- Il se combine ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie,
- Il se transporte, change de forme chimique, mais ne se détruit pas.

En chimie, dans le classement périodique on distingue trois familles essentielles :

- \*Les métaux qui constituent la plupart des éléments chimiques
- \*Les métalloïdes
- \*Les non métaux

Tableau périodique des éléments

La plupart des éléments chimiques sont des métaux

métalloïdes      non - métaux

1	H	2	He																																
3	Li	4	Be	5	B	6	C	7	N	8	O	9	F	10	Ne																				
11	Na	12	Mg	13	Al	14	Si	15	P	16	S	17	Cl	18	Ar																				
19	K	20	Ca	21	Sc	22	Ti	23	V	24	Cr	25	Mn	26	Fe	27	Co	28	Ni	29	Cu	30	Zn	31	Ga	32	Ge	33	As	34	Se	35	Br	36	Kr
37	Rb	38	Sr	39	Y	40	Zr	41	Nb	42	Mo	43	Tc	44	Ru	45	Rh	46	Pd	47	Ag	48	Cd	49	In	50	Sn	51	Sb	52	Te	53	I	54	Xe
55	Cs	56	Ba	57	La	58	Ce	59	Pr	60	Nd	61	Pm	62	Sm	63	Eu	64	Gd	65	Tb	66	Dy	67	Ho	68	Er	69	Tm	70	Yb	71	Lu		
87	Fr	88	Ra	89	Ac	90	Th	91	Pa	92	U	93	Np	94	Pu	95	Am	96	Cm	97	Bk	98	Cf	99	Es	100	Fm	101	Md	102	No	103	Lr		

Figure 1: les éléments chimiques connus comme métal

En effet, les métaux lourds ne sont pas tous des métaux, de plus les métaux ne sont pas tous classés dans les métaux lourds.

Légende :

\* : Un métalloïde est un élément qui combine certaines caractéristiques du métal et d'autres caractéristiques opposées, l'absence de conductivité électrique par exemple. L'arsenic est un métalloïde.

\*\* : Le cercle indique les éléments cités comme toxiques pour l'homme et l'environnement dans divers documents)

### **3. Appellation « ETM : éléments en traces métalliques»**

Les métaux lourds existent dans l'air, l'eau et le sol, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents « en traces ». Ils sont aussi « la trace » du passé géologique et de l'activité de l'homme. Pour cette raison, la plupart des scientifiques confèrent aux métaux lourds, l'appellation « éléments en traces métalliques » -ETM- ou par extension « éléments traces ». Cette dernière appellation semble être plus proche à une appellation juste. Mais elle n'est pas encore adoptée, et l'appellation métaux lourds reste la plus connue.

### **4. Problème de la liste des métaux lourds**

A cause de l'absence d'une définition scientifique des métaux lourds, les autorités réglementaires se sont trouvées dans une difficulté pour définir une liste unique pour les métaux à effet néfaste sur l'environnement et l'homme. : 7, 9, 10, 12 ou 15 métaux? Dans son rapport sur les éléments en France, l'Académie des Sciences ne prend en considération que neuf éléments, classés en « éléments en traces ». En conclusion, « La réglementation n'est donc d'aucun secours et contribue même à entretenir l'ambiguïté » citation tirée du rapport de Sénat français.

Dans le domaine pharmaceutique, entre la pharmacopée européenne et américaine à ce niveau encore nous ne trouvons pas un accord. Pour illustrer cette différence, le tableau suivant donne les éléments classés en traces métalliques dans la Ph Eu et l'USP.

**Tableau 1:** Liste des métaux lourds selon la monographie

<b>Spécification USP + Ph. Eu</b>						
	<b>NOM</b>	<b>Symb.</b>		<b>NOM</b>	<b>Symb.</b>	<b>Limites</b>
1	Plomb	Pb	6	Etain	Sn	Max 20 ppm
2	Mercure	Hg	7	Cadmium	Cd	
3	Bismuth	Bi	8	Argent	Ag	
4	Arsenic	As	9	Cuivre	Cu	
5	Antimoine	Sb	10	Molybdène	Mo	

<b>Ph EU spécification</b>			
11	Vanadium	V	Max 20 ppm
12	Palladium	Pd	
13	Platine	Pt	
14	Or	Au	
15	Ruthénium	Ru	

### 5. Toxicité des métaux lourds

Aujourd'hui les métaux lourds sont présents dans notre alimentation quotidienne. Il devient très difficile d'éviter l'exposition à ces éléments si répandus dans notre environnement. Il est connu que les métaux à des concentrations bien définies sont des oligo-éléments indispensables à la vie comme le fer, le cuivre, le nickel, le chrome....D'une manière générale, l'empoisonnement par les métaux lourds se traduit par le phénomène de la bioaccumulation. Par définition, ledit phénomène est le processus d'assimilation et de concentration des métaux lourds dans l'organisme.

La bioaccumulation est un processus par lequel un organisme vivant absorbe une substance à une vitesse plus grande que celle avec laquelle il la rejette  $V(\text{entrées}) > V(\text{sorties})$

### 6. Toxicité chronique ou Aigue

En règle générale, la toxicité aigue est généralement rare. Par contre la toxicité chronique peut avoir lieu en donnant des syndromes ambigus comme : le mal de tête, la fatigue, pâleur, vertige, manque de concentration, troubles digestifs, constipation,... Souvent ces syndromes sont mal diagnostiqués et entraînent une maladie chronique par fois silencieuse.

D'une manière résumée on peut citer les principaux dangers des métaux lourds sur la santé dans les points suivants:

- Ils remplacent ou substituent les minéraux essentiels dans le corps et perturbent le fonctionnement des biomolécules.
- Ils ont un effet antibiotique, ce qui augmente la résistance des bactéries.
- Ils changent notre code génétique.
- Ils produisent des radicaux libres.
- Ils neutralisent les acides aminés utilisés pour la détoxification.
- Ils causent des allergies.
- Ils endommagent les cellules nerveuses.
- Ils causent des problèmes neuro-dégénératifs (Parkinson, Alzheimer)
- Ils causent des lésions organiques et la maladie cancéreuse

## **II. Les métaux lourds dans les médicaments**

### **1. les Impuretés**

#### **1.1. Définition**

Par définition, les impuretés sont des substances étrangères qui existent, même en faibles quantités, dans une autre substance ou un mélange étudié et qui l'altèrent. La présence des impuretés dans les substances médicamenteuses n'altère pas seulement la stabilité du médicament mais aussi peut avoir une toxicité.

Quand il s'agit d'une impureté très toxique, les normes tolérées sont très strictes de l'ordre de ppm ou de ppb comme les métaux lourds et les solvants résiduels et les impuretés génotoxiques. Dans le cas contraire les normes sont peu serrées.

Les impuretés présentes dans les substances médicamenteuses sont traitées sous deux angles différents:

### **a. L'aspect chimique**

Comprenant la classification et la caractérisation des impuretés, la production de rapports, l'énumération des impuretés dans les spécifications et un bref exposé des méthodes d'analyse.

### **b. L'aspect de l'innocuité**

Des études générales de toxicité sont souhaitables, elles devraient être conçues de façon à permettre la comparaison entre la substance qualifiée et la substance non qualifiée. La durée de l'étude devrait être choisie en fonction de données pertinentes et l'étude devrait être réalisée sur l'espèce la plus susceptible de permettre la mise en évidence de la toxicité de l'impureté. Selon chaque cas, une étude à dose unique peut suffire, surtout pour les médicaments à dose unique. En général, une durée minimum de 14 jours et maximum de 90 jours sont acceptables.

## **1.2. Classification des impuretés**

Les impuretés dans les substances médicamenteuses, les excipients et les produits finis sont classés dans ICH selon les catégories suivantes.

- Les impuretés organiques qui sont dues à la dégradation de la substance active ou proviennent de la synthèse. On parle donc des impuretés de synthèse et de dégradation
- Les solvants résiduels ou encore les impuretés organiques volatiles
- Les impuretés inorganiques qui comportent les métaux lourds, la cendre sulfurique et l'eau

### **1.2.1. Les impuretés organiques**

Les impuretés organiques peuvent apparaître durant la fabrication et (ou) l'entreposage de la nouvelle substance médicamenteuse. Elles peuvent être connues ou non, volatiles ou non et elles comprennent:

- ✓ Les produits de base.
- ✓ Les sous-produits.
- ✓ Les intermédiaires.
- ✓ Les produits de dégradation.
- ✓ Les réactifs et les ligands.

D'une manière générale les normes tolérées pour ces impuretés sont de quelque % ou quelques ppm selon la toxicité des ces impuretés.

### 1.2.2. Les solvants résiduels

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

Les normes tolérées pour ces impuretés sont de quelques ppm selon la classe du solvant.

### 1.2.3. Les impuretés inorganiques

Les impuretés inorganiques peuvent provenir des produits de base, des canalisations et des réacteurs et des catalyseurs. Généralement, elles sont connues et identifiées et comprennent:

Les réactifs, les ligands et les catalyseurs; les métaux lourds et autres métaux résiduels; les sels inorganiques.

Les normes tolérées pour ces impuretés sont de quelques ppm et dépendent de la classe du métal et le mode d'administration du médicament. Le tableau suivant donne les normes des métaux résiduels tolérés par EMEA

**Tableau 2 :** Les normes des métaux lourds spécifiés dans les médicaments

Classification	Administration Orale		Administration Parental	
	EJA (µg/day)	Conc (ppm)	EJA (µg/day)	Conc (ppm)
<b>Classe-1A</b> Platine (Pt) Palladium (Pd)	100	10	10	1
<b>Classe-1B</b> Iridium (Ir) rhodium (Rd) ruthénium (Ru) osmium (Os)	100	10	10	1
<b>Classe-1C</b> Molybdène (Mo) Nickel (Ni) Chrome (Cr) Vanadium (V) <b>Métal avec une toxicité significative</b>	300	30	30	3
<b>Classe-2</b> Cuivre (Cu) Manganèse (Mg) <b>Métal ayant une légère toxicité</b>	2500	250	250	25
<b>Classe-3</b> Iron. (Fe) Zinc (Zn) <b>Métal avec un faible potentiel de toxicité</b>	13000	1300	1300	130

#### 4. Evaluation du risque des métaux

Le terme « apport quotidien tolérable » (AQT) est utilisé par le Programme international sur la sécurité des substances chimiques (PISC) pour décrire les limites d'exposition à des produits chimiques toxiques, alors que le terme « dose journalière admissible » (DJA) est utilisé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et d'autres organismes et instituts de santé nationaux et internationaux. Le nouveau terme « exposition journalière admissible » (EJA) est défini dans la directive du CIH Q3C comme l'apport admissible de solvants résiduels sur le plan pharmaceutique, dans le but d'éviter la confusion avec des valeurs différentes de DJA pour la même substance. Pour les métaux, le même terme (EJA) est défini dans la directive de l'EMEA (Agence européenne d'évaluation des produits médicamenteux).

On peut utiliser les limites de niveau en parties par million (ppm) figurant dans le tableau 2. Elles ont été calculées à l'aide de l'équation (1) ci-dessous, avec l'hypothèse qu'une masse de 10 grammes (g) de produit est administrée quotidiennement

$$\text{Concentration (ppm)} = 1000 \text{ EJA/Dose} \dots\dots\dots 1$$

Avec EJA est en mg/jour et la dose en g/jour.

### III. Méthodes de contrôle des Métaux lourds dans les produits Pharmaceutiques

Lorsque les substances médicamenteuses, les excipients et les produits finis contiennent un métal issu d'un réactif ou un catalyseur utilisé durant la synthèse, la teneur de ce métal doit être recherchée. Les normes de chaque métal résiduel doivent prendre en considération sa classe ou sa toxicité. Quand il s'agit d'un métal de classe 1 une méthode spécifique est obligatoire selon l'EMEA. Cependant, pour les métaux de classe 2 et 3 des méthodes non spécifiques dites semi quantitatives peuvent être utilisées et selon l'EMEA considérées suffisantes.

#### 1. Méthodes spécifiques pour la recherche des métaux lourds

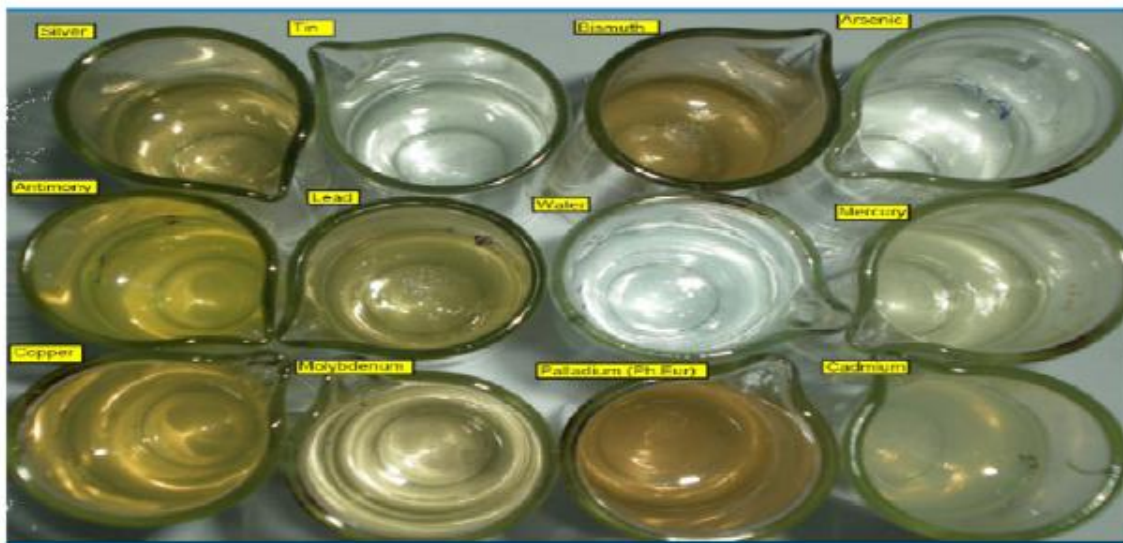
Dans ce type de méthode, Les métaux résiduels sont déterminés par des techniques de dosage élémentaire comme l'émission Atomique par Plasma ou l'absorption Atomique. Des méthodes citées dans les pharmacopées peuvent être suivies si cela est possible, sinon une autre méthode validée est valable également. La validation de la dite méthode doit être faite selon les directives de la CIH.

### 1.1. Méthode semi -quantitative

Les métaux lourds de classe 1 et 2 peuvent être déterminés par une méthode non spécifique. Cette méthode est générale dite semi quantitative comme le test des métaux lourds. Des critiques ont été dressées à cette méthode telle que la sensibilité et la spécificité. Mais c'est une méthode qui garde toujours sa place dans les chapitres généraux de la pharmacopée européenne et américaine code .

### 2. Principe de la méthode « Test des métaux lourds»

La méthode de dosage des métaux lourds se base sur la formation d'un précipité M-S « métal sulfite » caractérisé par une coloration spécifique à chaque métal. Cette réaction de précipitation se fait à pH de 3,5 en présence de Thioacétamide. L'essai consiste à comparer la coloration développée pour la substance à examiner et le témoin de plomb d'une concentration bien définie. La figure suivante présente les colorations développées pour chaque métal.



**Figure 2:** Coloration développée après réaction des métaux lourds

Comparaison à l'intensité de coloration par l'œil

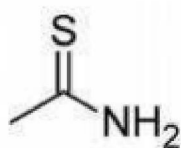
Le test des métaux lourds cité dans la Ph Eur se base sur la précipitation simultanée des ions métalliques présents dans la substance analysée. Cette précipitation se fait via une réaction entre les ions M et  $H_2S$ . Le gaz  $H_2S$  est produit in-situ dans la solution par l'hydrolyse de Thioacétamide.



Et, sitôt formé, le gaz H<sub>2</sub>S ne se dégage pas mais il réagit avec les solutions du métal selon cette équation :



Avec : CH<sub>3</sub>CSNH<sub>2</sub> est la Thioacétamide de formule chimique développée



La maîtrise de test des métaux lourds passe donc par la maîtrise de deux phénomènes :

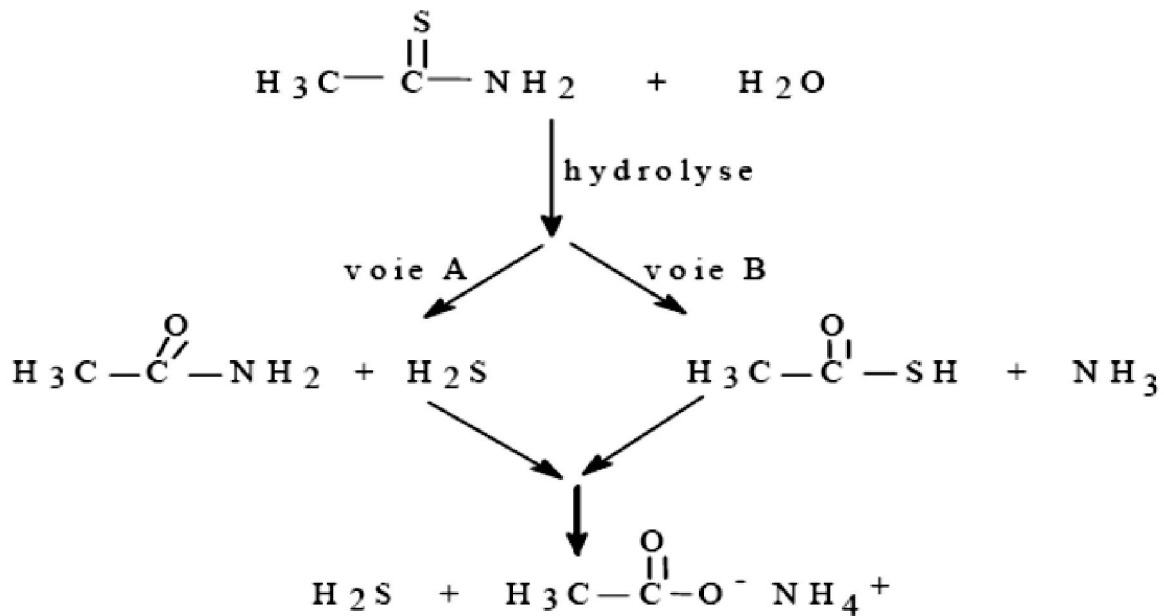
**-Hydrolyse du Thioacétamide**

**-Précipitation des sulfures métalliques**

**\*Hydrolyse du Thioacétamide**

Thioacétamide est une substance soluble dans l'eau (point de fusion 111-113°C), facile à conserver, incolore et dégageant une très faible odeur. Par hydrolyse, le Thioacétamide donne H<sub>2</sub>S et l'acétate d'ammonium. L'acétate d'ammonium formé ne dérange pas l'analyse car il est à faible concentration. L'hydrolyse de Thioacétamide est très lente en milieu neutre (pH=7). En milieu acide, par exemple pH =1 à 80°C, 50 % de Thioacétamide s'hydrolysent après 45 minutes. En milieu basique par contre l'hydrolyse est 8 à 10 fois plus rapide qu'en milieu acide.

Pour le test des métaux lourds, le réactif Thioacétamide est préparé extemporanément (immédiatement avant l'utilisation) en milieu basique (NaOH) en chauffant au bain marie (100°C). Cette opération a pour objectif d'amorcer l'hydrolyse. En effet, deux voies d'hydrolyse sont possibles pour le Thioacétamide.



Les recherches ont démontré qu'en milieu acide, l'hydrolyse s'effectue à environ 80 % par la voie A et à environ 20 % par la voie B. Par contre, en milieu alcalin c'est l'inverse qui se passe.

#### \*Précipitation des sulfures métalliques

La précipitation des sulfures métalliques à partir de H<sub>2</sub>S est utilisée dans plusieurs domaines comme la séparation des métaux, le traitement de l'eau, le dépôt de couche mince des semi conducteurs...En général, cette précipitation est fortement liée au pH de la solution. Dans le cas de test des métaux lourds la solution est maintenue à pH de 3,5 avec un tampon d'acétate. La question qui se pose à ce niveau, pourquoi faut-il opérer à ce pH ?

#### EXPLICATION THEORIQUE

Pour qu'un sulfure de type MS précipite, il faut que les concentrations des ions M<sup>2+</sup> et S<sup>2-</sup> dans la solution soient telles que :

$$[\text{M}^{2+}] [\text{S}^{2-}] > K_s$$

Avec K<sub>s</sub> est la constante de solubilité. Pour les solutions étudiées la concentration [M<sup>2+</sup>] est de l'ordre de 10<sup>-7</sup> M.

Les ions S<sup>2-</sup> proviennent de la dissociation de H<sub>2</sub>S que l'on génère dans la solution par hydrolyse de la Thioacétamide :



Ce qui signifie que tous les sulfures pour lesquels  $K_S \leq 10^{-21}$  précipitent. Il faudra donc prendre le plus grand soin de pH de la solution. Il se peut que pour des milieux trop acides, on risque de ne pas précipiter tous les cations souhaités.