CultureSciences-Chimie | Article

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) appliquée à l'analyse de faux médicaments et compléments alimentaires

Publié le 05.10.12 | Par Véronique Gilard

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est un outil puissant, non destructif, qui a trouvé des applications diversifiées en chimie, biochimie, biologie ou médecine. Cet article décrit l'utilisation de la méthode RMN DOSY appliquée à l'analyse de faux médicaments ou de compléments alimentaires dits « naturels ».

1. Introduction

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est un outil puissant, non destructif, qui a trouvé des applications diversifiées en chimie, biochimie, biologie ou médecine. Pour le chimiste, la RMN est surtout connue comme un outil privilégié pour la détermination structurale sur un produit purifié ; mais cette technique peut également permettre d'obtenir des informations précieuses pour l'analyse de mélanges. Les médicaments pouvant être considérés comme des mélanges complexes (composés de plusieurs substances différentes avec des constituants pouvant être simultanément présents en grandes et très faibles quantités), la RMN est donc un excellent outil pour l'étude de telles formulations. Malheureusement, elle est traditionnellement considérée comme ayant une sensibilité limitée par rapport à celle d'autres techniques d'analyse. Néanmoins, les avancées technologiques ont permis une amélioration des niveaux de sensibilité, en particulier grâce aux progrès dans l'instrumentation (cryosonde) et au développement de séquences d'impulsions.

Généralement, les méthodes de prédilection pour l'analyse de mélanges ainsi que la détection de traces sont les méthodes chromatographiques, couplées à des méthodes spectroscopiques telles que la spectroscopie UV-Visible, la spectrométrie de masse ou plus rarement la RMN. La méthode de RMN DOSY (Diffusion Ordered SpectroscopY) est, elle, basée uniquement sur la RMN ; elle permet l'analyse précise d'un mélange complexe sans séparation préalable des différentes composantes. La méthode permet de mesurer les coefficients d'autodiffusion translationnelle des molécules dans une solution. Les spectres des différents composants du mélange peuvent être séparés en fonction de la valeur de leurs coefficients de diffusion apparents. De plus, cette méthode non destructive peut facilement être automatisée et standardisée.

Cet article décrit l'utilisation de la méthode DOSY appliquée à l'analyse de faux médicaments ou de compléments alimentaires dits « naturels ».

2. Principe de la RMN DOSY

La RMN DOSY est une expérience de RMN à deux dimensions [4]. Une dimension correspond classiquement aux déplacements chimiques RMN et l'autre dimension aux coefficients de diffusion. L'utilisation de la RMN pour mesurer les coefficients d'auto-diffusion (ou diffusion translationnelle) des molécules dans des solutions est basée sur un gradient de champ pulsé (PFG) et une expérience d'écho de spin stimulé (STE).

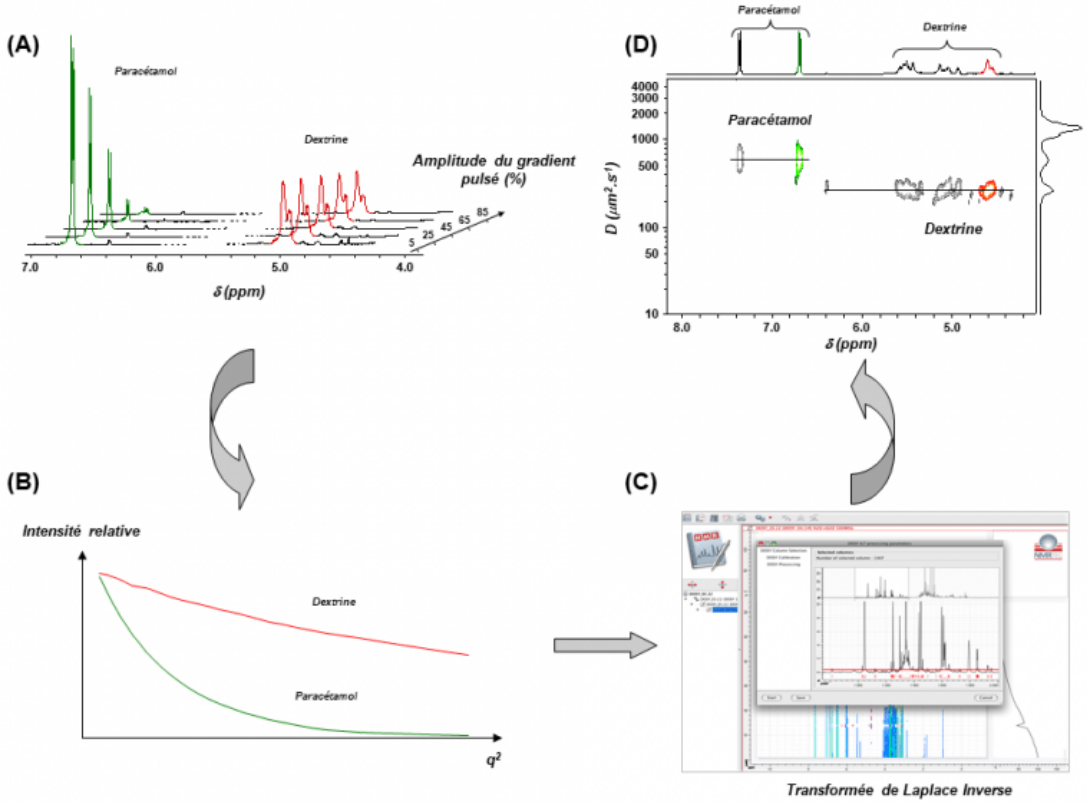

Figure 1 - Représentation schématique du principe de l'expérience DOSY enregistrée sur une formulation de faux médicament antimalarien.

Auteur(s)/Autrice(s) : Véronique Gilard – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

En règle générale, une série d'expériences à une dimension PFG-STE est acquise avec variations systématiques de l'amplitude des impulsions de gradient (Figure 1-A). Le taux de décroissance du signal est directement lié au coefficient de diffusion D, qui dépend de la masse molaire et d'autres propriétés hydrodynamiques (taille, forme, charge) ainsi que de son environnement (température, état d'agrégation). Le coefficient de diffusion (D) peut donc être estimé par l'analyse de la décroissance exponentielle du signal. Les signaux de petites molécules (D élevé) diminuent plus rapidement que ceux des grosses molécules (D faible) lorsque le gradient de champ pulsé est incrémenté (Figure 1-A, B). La transformée de Fourier du signal de RMN et la transformée de Laplace inverse de la décroissance des signaux (Figure 1-C) conduisent au spectre DOSY sur lequel les déplacements chimiques (δ en ppm) sont situés sur l'axe horizontal tandis que les coefficients de diffusion sont sur l'axe vertical (D en $\mu m^2.s$) (Figure 1-D). Toutes les taches appartenant à la même espèce sont alignées et les coefficients de diffusion peuvent être mesurés.

Les expériences de RMN DOSY décrites dans cet article ont été mises en œuvre après avoir extrait le médicament réduit en poudre (contenu d'une gélule ou comprimé broyé) dans un solvant deutéré par agitation mécanique et sonication.

3. Intérêt de cette méthode pour l'analyse de médicaments

Cette technique qui n'est pas encore utilisée en routine pour le contrôle des médicaments, a l'avantage d'être une méthode globale d'analyse permettant de travailler sans a priori sur un mélange, car l'échantillon est caractérisé par une empreinte spectrale qui lui est spécifique. Les médicaments sont des mélanges complexes, composés non seulement de principe(s) actif(s) mais également de différents excipients. Les excipients les plus couramment observés par RMN dans les médicaments peuvent être de diverse nature : agents liants, diluants, plastifiants ou conservateurs. En RMN du proton, tous les composés contenant des protons seront détectables dans la solution analysée, que leur présence soit attendue ou non. L'avantage des techniques de RMN par rapport aux méthodes chromatographiques conventionnelles est leur non-sélectivité qui permet d'avoir une information sur l'ensemble de la formulation. Notre équipe a montré l'intérêt de cette méthode dans la caractérisation de différents

médicaments.

3.1. Analyse de faux médicaments

De nombreux médicaments ont été analysés par cette méthode (ciprofloxacine, Prozac, Cialis, antipaludiques, Viagra). Les médicaments ont été achetés soit sur internet, soit directement dans divers pays. Parmi les différents médicaments analysés, nous avons trouvé des formulations surdosées ou d'autres contenant des composés chimiques frauduleusement ajoutés dont certains pour lesquels aucune donnée pharmacologique ou toxicologique n'était connue.

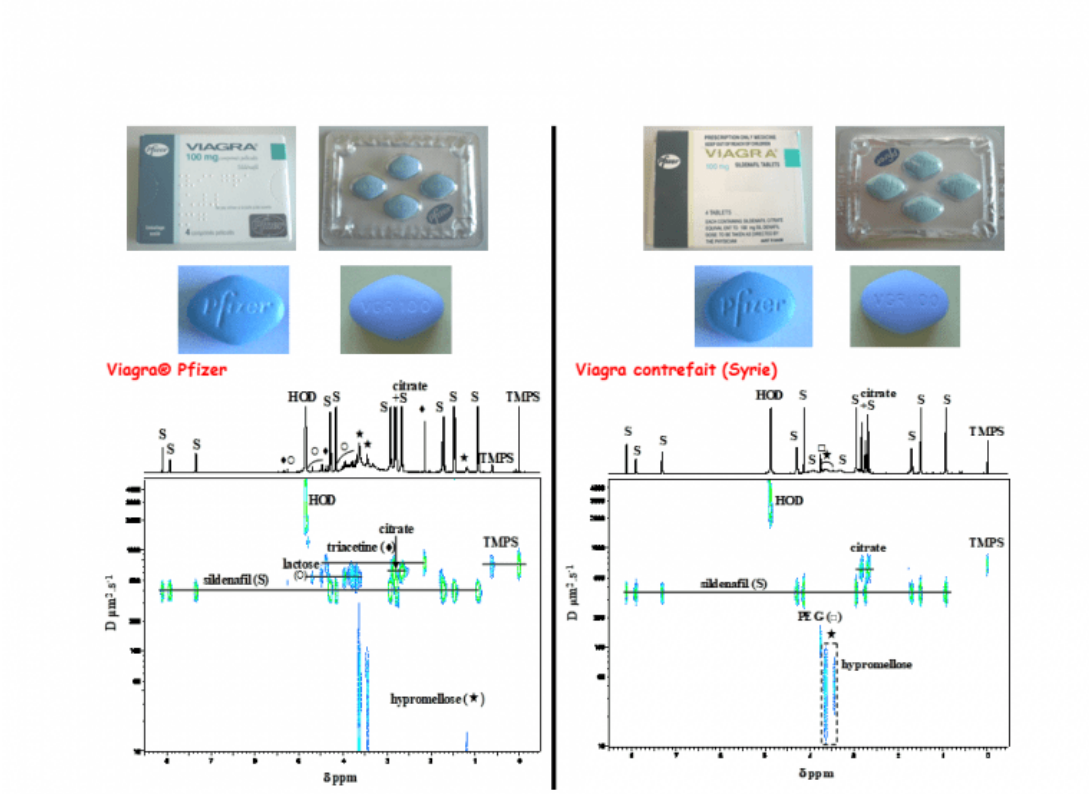

Figure 2 - Spectres RMN DOSY de formulations de Viagra.
À gauche, la formulation originale Viagra® (Laboratoires Pfizer) et à droite une contrefaçon en provenance de Syrie.

Auteur(s)/Autrice(s) : Véronique Gilard – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

Une illustration est présentée dans la Figure 2 ; il s'agit de deux formulations de Viagra. La première est la formulation originale commercialisée par les laboratoires Pfizer, la seconde est une copie commercialisée en Syrie. Même si dans les deux cas le principe actif, (sildénafil) est présent, il apparaît clairement les différences de composition. En effet deux des excipients observés dans la formulation originale, le lactose et la triacétine, sont absents de la formulation syrienne dans laquelle on trouve par contre la présence de polyethylène glycol (PEG). La technique peut presque être considérée comme une technique de déformulation dans la mesure où elle permet d'avoir une information sur l'ensemble des constituants présents dans un médicament, excepté s'ils ne contiennent pas de proton (un excipient comme le talc par exemple ne sera pas détecté) où s'ils sont à l'état de trace.

3.2. Analyse de compléments alimentaires

Les compléments alimentaires sont des produits intermédiaires entre les médicaments et les aliments traditionnels dont la consommation est en hausse, en particulier dans les pays industrialisés. Les compléments alimentaires que nous avons analysés étaient censés contenir des extraits de plantes et, pour certains seulement des vitamines, des acides aminés et des composés minéraux.

Nous nous sommes intéressés à deux types de compléments alimentaires : d'une part des compléments amaigrissants et d'autre part des compléments pour traiter le dysfonctionnement érectile. Dans ces derniers, nous avons trouvé des formulations qui avaient été frauduleusement contaminées par des composés synthétiques potentiellement dangereux. Il s'agit de composés analogues de principes actifs connus tels que le sildénafil, mais sur lesquels des modifications chimiques mineures ont été introduites, probablement dans le but de passer au travers de possibles contrôles qualités effectués par screenings ciblés.

Dans le cas des compléments alimentaires amaigrissants, plusieurs formulations analysées contenaient un principe actif anorexigène, la sibutramine. Pour illustration, la Figure 3 montre le spectre d'une formulation chinoise censée contenir des extraits de produits naturels à base de pommes. On repère très facilement dans le spectre DOSY non seulement la présence de sibutramine frauduleusement rajoutée, mais également celle de phénolphtaléine, un agent laxatif cancérigène.

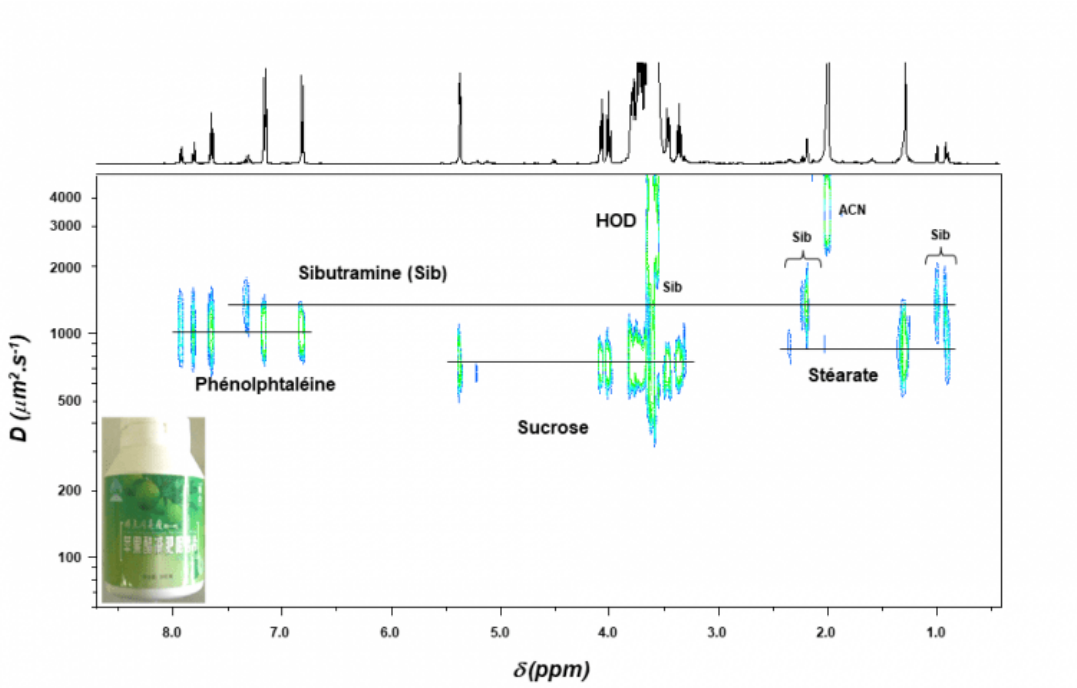

Figure 3 - Spectre RMN DOSY d'un amaigrissant dit « naturel » mais contenant pourtant deux composés actifs synthétiques, la sibutramine (un coupe-faim) et la phénolphtaléine (un laxatif)

Auteur(s)/Autrice(s) : Véronique Gilard – Licence : Pas de licence spécifique (droits par défaut)

L'avantage de la RMN DOSY est de donner une signature spectrale de la globalité du médicament. Suivant la formulation du médicament, son empreinte spectrale sera différente. Il est donc possible, à partir d'un spectre DOSY, de voir si un médicament contient bien le principe actif annoncé, s'il s'agit d'une copie parfaite ou approximative de la spécialité pharmaceutique, comment il a été fabriqué... **En permettant une analyse rapide des « images » des différentes matrices (similitudes et/ou différences), la RMN DOSY est un outil potentiel de traçabilité.**

Comme la RMN DOSY peut s'appliquer à l'analyse de divers mélanges complexes, il pourrait être intéressant, tout en restant dans une application aux fraudes de composition, d'étudier ses potentialités dans la lutte contre la contrefaçon de la parfumerie et des cosmétiques.

4. Bibliographie et Ressources en Ligne

- Diffusion-ordered two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy, K.F. Morris, C.S. Johnson Jr. *J. Am. Chem. Soc.* 114, 3139–3141 (1992)
- Ressources connexes publiées sur CultureSciences-Chimie (ci-dessous)

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S)

Véronique Gilard

Véronique Gilard est professeur à l'Université Paul Sabatier à Toulouse. Ses activités de recherche sont axées sur des applications de la RMN à l'interface chimie santé et ses activités d'enseignement sur les spectroscopies et méthodes d'analyse.

MISE EN LIGNE

Nicolas Lévy

Professeur agrégé de chimie, responsable du Centre de Préparation à l'Agrégation externe de Chimie (École Normale Supérieure de Paris - Sorbonne Université - Université Paris-Saclay), responsable éditorial de CultureSciences-Chimie de 2008 à 2014.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

Creative Commons - Attribution - Pas d'utilisation commerciale - Pas de modifications

PARTENAIRE(S)

Cet article provient du numéro spécial des Annales des Falsifications de l'Expertise Chimique et Toxicologique publiées par la Société des Experts Chimistes de France (2011)

Société des Experts Chimistes de France (SECF)