

Développement d'une méthode pour la séparation de 19 antipaludéens par HPLC au moyen de la planification expérimentale et du *Design Space*

J. Mbinze Kindenge^{1,2}, R.D. Marini², B. Debrus², P. Lebrun², F. Lecomte², B. Boulanger³, Ph. Hubert²

¹ Laboratoire d'analyse et de contrôle des médicaments et denrées (Lacomeda), Université de Kinshasa, KINSHASA, République Démocratique du Congo

² Laboratoire de Chimie Analytique, CIRM, Université de Liège, LIEGE, Belgique

³ UCB Pharma SA – R&D Clinical Pharmacometrics, BRUXELLES, Belgique

De nos jours, le paludisme demeure la parasitose tropicale la plus importante au monde. Il est responsable de plus de un million de décès par an et près de 60% de la population mondiale vit dans des zones à risques, principalement en Afrique, en Asie et en Amérique centrale et du Sud [1]. C'est pourquoi la mise au point de méthodes séparatives génériques permettant l'identification et le dosage des molécules à effets antipaludéens reste une préoccupation majeure principalement pour détecter les contrefaçons. Dès lors, 19 molécules couramment utilisées dans des formulations pharmaceutiques antipaludéennes ont été sélectionnées : la pipéraquline, la cinchonine, la chloroquine, le sulfalène, l'amodiaquine, la quinine, la sulfadoxine, la pyriméthamine, la primaquine, le proguanil, la méfloquine, l'artémisinine, la dihydroartémisinine, l'artésunate, l'artéméther, l'halofantrine, l'artéether, la luméfantrine et l'atovaquone. Quatre conservateurs communément utilisés dans les formulations pharmaceutiques ont également été considérés en termes de sélectivité. Afin de pouvoir optimiser les paramètres régissant la séparation de ces molécules, la planification expérimentale a été utilisée [2]. A cet effet, un plan expérimental factoriel complet comportant trois facteurs, le pH de la partie aqueuse de la phase mobile, la température de la colonne et le temps de gradient (de 5% à 95% de méthanol), a été effectué. Ce plan comprenait 45 conditions expérimentales auxquelles les temps au début, au sommet et à la fin des pics ont été enregistrés. Ces réponses ont été modélisées par des équations linéaires multiples et ont permis le calcul et l'optimisation de la séparation (*S*) qui est définie comme la différence entre le temps au début d'un pic et le temps à la fin du pic précédent, pour la paire critique (pic les plus proches). Afin de pouvoir obtenir une estimation de la robustesse, la probabilité d'atteindre une séparation supérieure ou égale à zéro ($R_s \sim 1.5$) a été calculée grâce à des simulations de Monte Carlo. Dès lors, la zone dans laquelle cette probabilité est supérieure à un niveau de qualité prédéfini, dénommée *design space*, offrira une séparation en accord avec les obligations analytiques. Des conditions chromatographiques permettant la séparation complète des molécules ont ainsi été obtenues et ont été éprouvées par le dosage de l'amodiaquine et de l'artésunate dans le Coarsucam[®], formulation commercialisée en R.D. Congo. De plus, la séparation de sous mélanges spécifiques d'antipaludéens ne nécessitera plus la moindre expérience car le comportement chromatographique des composés a été acquis lors de la planification expérimentale.

[1] S. Hay, C.A. Guerra, A.J. Tatem, A.M. Noor, R.W. Snow, The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future, *Lancet Infect. Dis.*, 4, (2004), 327-336.

[2] P. Lebrun, B. Govaerts, B. Debrus, A. Ceccato, G. Caliaro, Ph. Hubert, B. Boulanger, Development of a new predictive modelling technique to find with confidence equivalence zone and design space of chromatographic analytical methods, *Chemom. Intell. Lab. Sys.*, 91, (2008), 4-16.