

Manual

Accompagnant le GPHF-Minilab™

Supplément 2015

Volume II

TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE



Une organisation caritative
créée et soutenue par
Merck, Darmstadt · Allemagne



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

SUPPLÉMENT 2015 AU VOLUME II DES TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Rédigé par

Richard W. O. Jähnke et Kornelia Dwornik

* * *

Revu par

Adrian Barojas, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Kennedy Chibwe, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, Mustapha Hajjou, Lukas Roth, Patrick Lukulay et Souly Phanouvong

* * *

Publié par

Le Global Pharma Health Fund (GPHF), une organisation caritative créée et soutenue par Merck Darmstadt - Allemagne, et le programme Promoting the Quality of Medicines (PQM) de la United States Pharmacopeia (USP)

* * *

Copyright © GPHF & USP PQM

* * *

Remerciements

La publication de ce supplément a été rendue possible grâce au généreux soutien financier des Etats-Unis par l'intermédiaire de la United States Agency for International Development (USAID). Le GPHF et le USP PQM sont responsables du contenu de ce manuel et celui-ci ne reflète pas nécessairement les opinions de l'USAID ou du Gouvernement des Etats-Unis.

* * *

Le projet GPHF-Minilab™

La prolifération des médicaments contrefaits constitue un danger sérieux pour la santé. L'organisation internationale de police criminelle (Interpol) estime qu'une proportion inquiétante de dix à trente pour cent de tous les médicaments distribués dans les pays en voie de développement est soit contrefaite, ou présente à la base une qualité insuffisante. Le combat des contrefaçons a pour but d'assurer que les investissements réalisés dans les programmes de santé pendant plusieurs décennies ne sont pas anéantis par manque de vigilance.

Afin de lutter contre les médicaments anti-infectieux contrefaits ou de qualité très médiocre infiltrant les organisations d'approvisionnement en médicaments et les programmes prioritaires de traitement des maladies dans les pays à paludisme, tuberculose et VIH/SIDA endémiques, le Global Pharma Health Fund (GPHF) à Francfort, une organisation caritative exclusivement soutenue par Merck, Darmstadt - Allemagne, a développé et organisé la distribution à coût modéré du GPHF-Minilab™, un mini-laboratoire destiné à une vérification rapide de la qualité des médicaments et à la détection de produits pharmaceutiques contrefaits.

Depuis de nombreuses années, les GPHF-Minilabs agissent en tant que défense de première ligne dans le combat contre les médicaments contrefaits et de qualité substandard menaçant la santé de millions d'individus vivant dans les pays en voie de développement. Dans le monde entier, plus de 680 Minilabs ont déjà été fournis dans 90 pays à travers les régions d'Afrique, d'Asie-Pacifique et d'Amérique latine.

Les institutions gouvernementales de la santé publique et les agences nationales de la sécurité des médicaments en coopération avec l'Organisation Mondiale de la Santé et le programme Promoting the Quality of Medicines (PQM) de la U.S. Pharmacopeia (USP) représentent les principaux partenaires actifs. Ces dernières années, des projets communs de contrôle de qualité des médicaments, mis en place en Asie du sud-est et en Afrique orientale ont permis la saisie par Interpol de millions de comprimés antipaludiques contrefaits ne contenant aucun principe actif.

Un besoin toujours constant de contrôle de qualité des médicaments, simple et de coût abordable dans les pays à bas revenus, constitue aujourd'hui l'un des moteurs principaux dans la mise au point de nouveaux protocoles de tests pour le GPHF-Minilab™. Le besoin de généralisation de tests souligne l'importance de la collaboration avec nos partenaires actifs aux Etats-Unis. Pour une plus grande sécurité des patients et une meilleure situation sanitaire dans les pays en voie de développement, d'autres partenaires sont invités à se joindre à nous.

* * *

Réalisé par Grimm Graphic Design, Ochsenfurt, Allemagne

Table des Matières

| Chapitre | Page |
|--|------|
| Nouvelles procédures individuelles de tests chromatographiques | 4 |
| <i>Supplément au Volume II, Chapitre 6</i> | |
| <i>Médicaments pour le traitement des maladies cardiovasculaires et la santé génésique</i> | |
| 6.80 Aténolol | 4 |
| 6.81 Bisoprolol fumarate incl. les formules combinées d'hydrochlorothiazide | 8 |
| 6.82 Captopril incl. les formules combinées d'hydrochlorothiazide | 12 |
| 6.83 Clomifène citrate | 16 |
| 6.84 Hydrochlorothiazide incl. les formules combinées fréquentes | 20 |
| Tableau synoptique des procédures de test chromatographiques..... | 24 |
| <i>Supplément au Volume II, Chapitre 7</i> | |
| Liste actualisée des substances témoin du GPHF-Minilab™ | 25 |
| <i>Supplément au Volume II, Chapitre 10</i> | |
| Santé & Sécurité..... | 27 |

6.81 Bisoprolol fumarate incl. les formules combinées d'hydrochlorothiazide

Examen Primaire du Médicament via Inspection Physique & Test de Désintégration

I. INSPECTION PHYSIQUE

Chercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique, comme il est décrit dans les chapitres d'entrée concernant les méthodes et les procédés généraux du manuel principal. Inscrire toutes les caractéristiques de produit en utilisant le formulaire de rapport en tant que guide. Chaque comprimé contient généralement 1,25; 2,50; 3,75; 5; 7,5 ou 10 mg de bisoprolol base. Exprimé en formule linéaire, le fumarate de bisoprolol est désigné en tant qu'hémifumarate de bisoprolol. Les comprimés de fumarate de bisoprolol peuvent être combinés à l'hydrochlorothiazide.

II. TEST DE DESINTEGRATION

Tous les comprimés de bisoprolol à libération rapide doivent réussir le test de désintégration comme décrit dans les chapitres d'entrée concernant les méthodes et les procédés généraux du manuel principal. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37°C en moins de 30 minutes. Dans le cas contraire, le produit présente une anomalie majeure.

III. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les produits pharmaceutiques particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement manquent ou sont incorrects, à formule médicamenteuse erronée ou à emballage défectueux, à étiquettes incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées en langue étrangère, doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

Vérification de l'Identité et de la Teneur en Substance Active via le Test de CCM

I. PRINCIPE

Combiné ou non à l'hydrochlorothiazide, le fumarate de bisoprolol est extrait des comprimés à l'aide de méthanol et déterminé par chromatographie sur couche mince (CCM) en référence à une substance témoin appropriée.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- 1) Pilon
- 2) Feuille d'aluminium
- 3) Entonnoir
- 4) Bande adhésive
- 5) Stylo feutre
- 6) Crayon et règle graduée
- 7) Fioles de verre de 10 ml
- 8) Kit de pipettes graduées (1 à 25 ml)
- 9) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 à 100 ml)
- 10) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F₂₅₄, taille 5x10 cm
- 11) Tubes capillaires de verre (2-µl de capacité)
- 12) Cuve chromatographique (récipient de 500-ml)
- 13) Plaque chauffante
- 14) Papier filtre
- 15) Paire de ciseaux
- 16) Paire de pincettes
- 17) Lampe UV de 254 nm
- 18) Cuve d'immersion (bêcher de 250 ml)
- 19) Ninhydrine
- 20) Méthanol
- 21) Acide acétique anhydre
- 22) Substance témoin, des comprimés contenant 5 mg de bisoprolol en tant que sel de fumarate, par exemple

| | |
|--|---|
| <p>III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK</p> | <p>Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, des comprimés contenant 5 mg de bisoprolol en tant que sel de fumarate, par exemple. Envelopper deux comprimés de référence dans une feuille d'aluminium et les réduire en fine poudre en utilisant un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium dans un flacon de laboratoire de 10 ml et rincer toute la poudre obtenue à l'aide de 8 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. Refermer le flacon de laboratoire et agiter pendant 3 minutes env. La plupart des solides n'étant pas dissous alors, laisser reposer la solution pendant 30 minutes encore jusqu'à ce que la masse de résidus non dissous se dépose au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 1,25 mg de bisoprolol total par ml et être étiquetée en tant que '<i>Solution Témoin du Stock de Bisoprolol</i>'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide clair ou trouble.</p> |
| <p>IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMITE SUPÉRIEURE)</p> | <p>La solution témoin du stock ne nécessite pas de dilution supplémentaire. Elle constitue déjà la concentration de travail finale de 1,25 mg de bisoprolol total par ml.</p> <p>Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100 % de bisoprolol.</p> |
| <p>V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMITE INFÉRIEURE)</p> | <p>A l'aide des pipettes graduées, introduire 4 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 1 mg de bisoprolol total par ml et être étiquetée en tant que '<i>Solution Témoin d'Usage de Bisoprolol 80%</i>'.</p> <p>Cette solution témoin d'usage inférieure représente un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de la quantité de bisoprolol comme l'indique l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active représente la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique approprié.</p> |
| <p>VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 1,25 MG DE BISOPROLOL A L'UNITE</p> <p>2,5 MG DE BISOPROLOL A L'UNITE</p> <p>3,75 MG DE BISOPROLOL A L'UNITE</p> <p>5 MG DE BISOPROLOL A L'UNITE</p> <p>7,5 MG DE BISOPROLOL A L'UNITE</p> <p>10 MG DE BISOPROLOL A L'UNITE</p> | <p>Prendre quatre comprimés entiers d'un produit pharmaceutique approprié acquis en magasin ou sur le marché. Envelopper, comme à l'habitude les comprimés dans une feuille d'aluminium et les réduire en fine poudre. Transférer toute la poudre dans un flacon de verre de laboratoire de 10 ml. Pour l'extraction, ajouter 4 ml de méthanol à l'aide d'une pipette graduée, fermer le flacon et agiter pendant trois minutes env. La plupart des solides n'étant pas dissous alors, laisser reposer la solution pendant trente minutes encore jusqu'à ce que la masse des résidus non dissous se dépose au fond du flacon.</p> <p>Prendre trois comprimés entiers et extraire la poudre obtenue à l'aide de 6 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 10 ml. Continuer à travailler comme ci-dessus.</p> <p>Prendre deux comprimés entiers et extraire la poudre obtenue à l'aide de 6 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 10 ml. Continuer à travailler comme ci-dessus.</p> <p>Prendre deux comprimés entiers et extraire la poudre obtenue à l'aide de 8 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 10 ml. Continuer à travailler comme ci-dessus.</p> <p>Prendre un comprimé entier et extraire la poudre obtenue à l'aide de 6 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 10 ml.</p> <p>Prendre un comprimé entier et extraire la poudre obtenue à l'aide de 8 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 10 ml. Continuer à travailler comme ci-dessus.</p> <p>Combinées ou non à l'hydrochlorothiazide, toutes les solutions essai du stock doivent contenir finalement 1,25 mg de bisoprolol total par ml et être étiquetées en tant que '<i>Solution Essai du Stock de Bisoprolol</i>'. Ne préparer ces solutions que juste avant la réalisation de chaque test. Poursuivre le travail avec les solutions claires ou troubles.</p> |

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Les solutions essai du stock de bisoprolol ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elles constituent déjà la concentration de travail finale de 1,25 mg de bisoprolol par ml. Quand elle est préparée sur la base d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration de bisoprolol de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme le présente la page ci-contre, en utilisant les tubes capillaires fournis.

Il est possible de déposer jusqu'à cinq échantillons sur une plaque. Contrôler l'uniformité de tous les dépôts sous une lampe UV de 254 nm. Même si le bisoprolol reste invisible, certains excipients et autres composants actifs apparaissent, permettant la vérification. Tous les dépôts doivent être ronds de forme et également répartis sur la ligne de base. Bien qu'ils puissent différer en intensité, ils ne doivent jamais différer en diamètre. Des intensités différentes sont dues aux quantités résiduelles d'excipients ou à différentes concentrations de substance active dans les solutions d'échantillons. Une différence dans la taille de la tache cependant, est due à un mauvais dépôt. Répéter cette étape si les dépôts ne présentent pas de forme homogène la première fois.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 20 ml de méthanol et précisément 0,1 ml d'acide acétique anhydre dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger fermement. Border les parois de la cuve à l'aide de papier filtre et attendre environ 15 minutes de façon à assurer la saturation de la chambre par les vapeurs de solvant. Déposer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 15 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le solvant, puis faire évaporer tout excès de solvant à l'aide d'une plaque chauffante au besoin.

X. REVELATION DES TACHES

Sécher tous les résidus de solvant et observer la chromatoplaque d'abord à la lumière UV de 254 nm en utilisant la lampe à piles fournie. Exposer ensuite la plaque à la ninhydrine et à la chaleur. Utiliser ce procédé de coloration à la fois pour l'identification de bisoprolol et à des fins de quantification.

Pour la coloration, mesurer une quantité de 3 g de ninhydrine (10 fois env. une spatule bien remplie) et dissoudre dans un mélange de 150 ml de méthanol et 30 ml d'acide acétique anhydre en utilisant le bécher de 250 ml fourni. Introduire la plaque dans la solution de coloration en utilisant une paire de pincettes. Retirer immédiatement la plaque de la solution et laisser s'écouler tout l'excès de liquide sur du papier tissu. Attendre une minute encore et essuyer tout résidu liquide du dos de la plaque; continuer à sécher la solution de coloration à l'aide de la plaque chauffante fournie réglée à la plus haute température. Pendant le réchauffement, toutes les taches de bisoprolol deviennent visibles progressivement au bout d'une minute environ. La coloration est achevée au bout de deux minutes environ. Le procédé de coloration à la ninhydrine est illustré à la page 26 du manuel principal de l'année 2008. Remarquer que la peau entrée en contact avec la solution de ninhydrine sera colorée aussi. Ceci ne présente toutefois aucun inconvénient pour la santé et les taches violettes disparaîtront au bout d'un à deux jours.

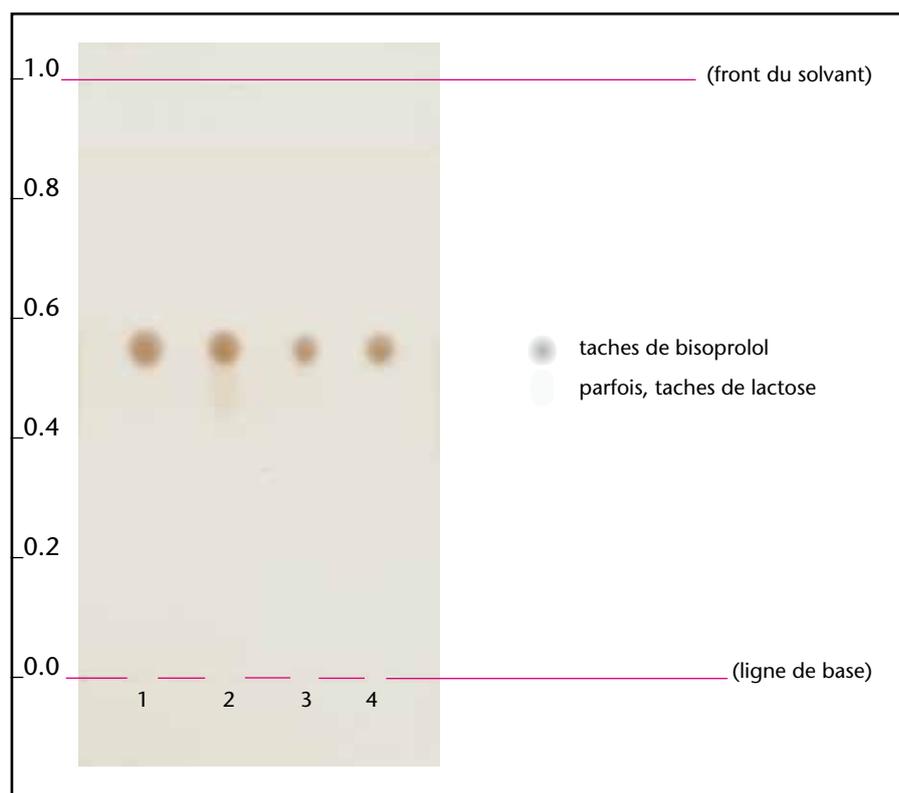
XI. CHROMATOPLAQUE OBSERVEE A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A LA NINHYDRINE

Développement n°1:
Solution témoin supérieure représentant 100% de bisoprolol total

Développement n°2:
Un médicament de bonne qualité à teneur acceptable en bisoprolol

Développement n°3:
Un médicament de basse qualité à teneur inacceptable en bisoprolol

Développement n°4:
Solution témoin inférieure représentant 80% de bisoprolol total



XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Le bisoprolol lui-même reste invisible et aucune autre tache ne doit être révélée à moins que le médicament analysé ne se présente en tant que produit combiné. Dans ce dernier cas, une forte tache bleu violet à une distance de déplacement de 0,73 environ indique la présence d'hydrochlorothiazide dans la solution essai. De plus, l'acide fumarique en concentrations faible à la limite de la détection peut apparaître en tant que tache très pâle avec un facteur de rétention relatif de 0,68 environ.

XIII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A LA NINHYDRINE

Quand on expose la chromatoplaque à la ninhydrine et la chaleur, des taches brunes, rondes à une distance de déplacement de 0,55 environ indiquent la présence de bisoprolol. De fortes taches supplémentaires générées par la solution essai indiquent la présence d'autres agents actifs ou une dégradation de bisoprolol; ce dernier cas est plus probable quand la tache est accompagnée d'une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite provenant de la solution essai peut indiquer aussi une faible teneur en bisoprolol, et l'absence de taches indique une absence de bisoprolol. Des agents auxiliaires inclus dans les différentes formules de comprimés peuvent entraîner la présence de quelques taches faibles se déplaçant le long du front de solvant ou apparaissant près ou sur la ligne de base. Cependant, s'il est présent, le lactose apparaîtra en tant que faible tache diffuse à une distance de déplacement d'environ 0,47 juste au-dessous du bisoprolol. L'hydrochlorothiazide provenant des produits combinés et l'acide fumarique ne sont pas colorés.

XIV. RESULTATS & MESURES A PRENDRE

La tache de bisoprolol du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance parcourue à la tache du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. On doit parvenir à ce résultat pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est pas le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Ecarter le lot si la teneur en substance active ne peut être constatée après un troisième développement. Transmettre des échantillons supplémentaires à un laboratoire de contrôle de médicaments entièrement équipé afin d'obtenir un deuxième jugement. Garder des échantillons et placer le lot en quarantaine jusqu'à la prise d'une décision définitive de rejet ou de mise en circulation des médicaments. A des fins de documentation, prendre des photos des différentes lectures avec un appareil-photo numérique; éteindre d'abord le flash.

Véritable ou contrefait?



Lutter contre les médicaments contrefaisants · Protéger la vie



Une organisation caritative
créée et soutenue par Merck,
Darmstadt · Allemagne

Global Pharma Health Fund
Frankfurt, Allemagne
Tél. +49-69-46939-662
Fax +49-69-46939-852
info@gphf.org · www.gphf.org



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

**U.S. Agency for
International Development**
Office of Health, Infectious Diseases
and Nutrition, Ronald Reagan Bldg.,
1300 Pennsylvania Avenue NW
Washington, DC 20523-3700, USA
Tél. +1-202-712-4789
Fax +1-202-216-3702
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov

United States Pharmacopeia
Promoting the Quality
of Medicines program
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790, USA
Tél. +1-301-816-8162
Fax +1-301-816-8374
pqm@usp.org · www.pqmusp.org