

# Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab™

Supplément 2022 en ligne  
sur plus de médicaments  
pour traiter les troubles  
cardiovasculaires

## Tests physiques & Chromatographie sur couche mince



Richard W. O. Jähnke et Kornelia Dwornik



Une association caritative avec le soutien bénévole de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne



The Promoting the Quality of Medicines (PQM) program, funded by the U.S. Agency for International Development (USAID), is implemented by the U. S. Pharmacopeial Convention (USP).

# Table des matières

Chapitre	Page
Santé & sécurité .....	3
Nouveaux protocoles d'essai du Minilab .....	4
7.103 <b>Irbésartan</b> combiné ou non à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine.....	4
7.104 <b>Losartan</b> potassique combiné ou non à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine .....	8
7.105 <b>Méthildopa</b> anhydre/sesquihydrate combinée ou non à l'hydrochlorothiazide .....	12
7.106 <b>Telmisartan</b> combiné ou non à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine .....	16
7.107 <b>Valsartan</b> combiné ou non à l'hydrochlorothiazide ou/et à l'amlodipine .....	20

### Remarque importante

Les produits chimiques accompagnant le GPHF-Minilab™ ainsi que les produits pharmaceutiques à tester peuvent contenir des substances dangereuses. Par conséquent, les utilisateurs du Minilab ainsi que les assistants doivent suivre exactement toutes les instructions de ce manuel et du manuel principal 2022 afin d'éviter des risques possibles pour la santé, résultant d'un contact accidentel avec ces substances ou avec les produits pharmaceutiques.

Il convient de manipuler avec précaution les produits chimiques et pharmaceutiques afin d'éviter la production excessive de poussière ou de vapeurs dans l'atmosphère. L'analyse devrait être effectuée sous une hotte d'aspiration ou en cas de conditions précaires là où une ventilation simple mais suffisante est garantie.

Des symptômes tels que somnolence, difficultés respiratoires, nausées ou éruption cutanée doivent être communiqués au responsable, surtout si de grandes quantités

de dissolvants organiques ont été renversées accidentellement.

En cas de renversement ou d'éclaboussures de liquides affectant la peau ou les yeux, rincez abondamment à l'eau, communiquez l'incident au responsable et, si nécessaire, au médecin local pour de plus amples soins.

Utilisez des vêtements de protection et des lunettes de sécurité lors de la manipulation de solutions de test, par exemple, acides concentrés ou solutions alcalines.



*Utiliser des vêtements de protection, un tablier et des lunettes de sécurité par exemple, avant de commencer tout travail sur le contrôle de qualité des médicaments. Laver soigneusement les mains et le visage après le travail.*

## Examen primaire du médicament via inspection physique

### I. INSPECTION PHYSIQUE

Lors de l'inspection visuelle, rechercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique comme décrit dans les premiers chapitres sur des méthodes et opérations générales du manuel principal publié 2022, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Indépendamment de la forme saline et de la teneur en eau cristalline, chaque comprimé contient généralement 75, 150 ou 300 mg d'irbésartan par base libre. D'autres dosages

sont connus. Les comprimés peuvent être associés à 15 ou 25 mg d'hydrochlorothiazide ou à 5 ou 10 mg d'amlodipine. Vérifier le poids total des comprimés ou le poids de remplissage des gélules à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Toutes les formulations de comprimés ou de gélules d'irbésartan à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal 2022. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37 °C en moins de 30 minutes. Un échec d'un produit à libération immédiate représenterait une anomalie majeure.

### II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les médicaments d'origine particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement sont incorrects ou manquants, à forme médicamenteuse ou à emballage défectueux, ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou écrites en langue étrangère ou conservés dans de mauvaises conditions doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

## Vérification de l'identité et de la teneur en principe actif via le test de CCM

### I. PRINCIPE DU TEST

Qu'il soit associé ou non à d'autres médicaments cardiaques, l'irbésartan est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu de solution de méthanol ammoniacal, puis son identité et son contenu sont vérifiés par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un étalon secondaire approprié. Pour les associations à doses fixes, se référer au protocole relatif à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine dans le manuel principal 2022 pour des tests supplémentaires.

### II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- |  |  |
|--|--|
| 1) Pilon   | 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml)                       |
| 2) Feuille d'aluminium   | 14) Plaque chauffante  |
| 3) Entonnoir   | 15) Papier filtre  |
| 4) Spatule   | 16) Pair de ciseaux  |
| 5) Bande adhésive  | 17) Pair de pincettes  |
| 6) Stylo feutre  | 18) Lampe UV 254 nm  |
| 7) Crayon et règle gradué  | 19) Lampe UV 366 nm  |
| 8) Fioles de verre de 10 ml  | 20) Méthanol   |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml)   | 21) Acétone  |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml)  | 22) Toluène  |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F <sub>254</sub> taille 5 x 10 cm | 23) Solution d'acide acétique 96%                                      |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité  | 24) Solution d'ammoniaque 25%  |
|  | 25) Substance témoin, per exemple, des comprimés d'irbésartan à 150 mg |

### III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 150 mg d'irbésartan par base libre. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 14 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. À l'aide d'une nouvelle pipette, ajouter au mélange existant 1 ml de solution d'ammoniaque à 25 %, fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du

flacon. La solution obtenue doit contenir 10 mg d'irbésartan total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock d'Irbésartan'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide surnageant clair ou même trouble.

#### IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMIT SUPERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 11,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,8 mg d'irbésartan total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage d'Irbésartan 100%'.

Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% d'irbésartan.

#### V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMIT INFERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 14,6 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,64 mg d'irbésartan total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage d'Irbésartan 80%'.

Cette solution témoin d'usage inférieure constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité d'irbésartan indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active constitue la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites des pharmacopées ne s'appliquent pas dans notre contexte.

#### VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK D'UN MEDICAMENT DECLARANT UNE TENEUR EN IRBESARTAN DE 75 MG PAR UNITE

Prendre un comprimé complet ou une gélule entière à partir d'un produit pharmaceutique approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, le comprimé est enveloppé dans une feuille d'aluminium et réduit en fine poudre. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 25 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans un flacon ajoutant aussi les deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 7 ml de méthanol suivis de 0,5 ml de solution d'ammoniaque à 25% en utilisant des pipettes graduées appropriées. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.

##### 150 MG D'IRBESARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 14 ml de méthanol puis 1 ml de solution d'ammoniaque à 25% avec des pipettes graduées appropriées et extraire l'irbésartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

##### 300 MG D'IRBESARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 50 ml, ajouter 28 ml de méthanol suivis de 2 ml de solution d'ammoniaque à 25% à l'aide de pipettes graduées appropriées et extraire l'irbésartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

Qu'elles soient ou non associées à d'autres médicaments cardiovasculaires, toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 10 mg d'irbésartan total par ml et être étiquetées comme 'Solution Essai du Stock d'Irbésartan'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.

#### VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 11,5 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que 'Solution Essai d'Usage d'Irbésartan'.

La concentration prévue d'irbésartan dans la solution essai d'usage est de 0,8 mg par ml et doit correspondre à la concentration d'irbésartan de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

### VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle et à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque de CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme il est montré sur 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. Ils 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, aux différentes concentrations de médicaments ou aux associations dans les solutions essai. 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.

Sécher délicatement les dépôts. Pour ce faire, tenir la plaque chromatographique avec la paire de pincettes dans le flux d'air chaud juste directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ 90 secondes jusqu'à ce que l'odeur de la solution d'ammoniaque ait presque disparu. Pendant l'agitation, le dos de la plaque de chromatographie peut toucher directement la plaque chauffante pendant une fraction de seconde chaque fois que la plaque CCM se balance d'avant en arrière. Laisser la plaque de chromatographie reposer pendant quelques minutes et permettre la solution d'ammoniaque de disparaître complètement avant le développement. Cette dernière étape améliore la résolution entre les taches des différents sartans.

### IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

Introduire à l'aide de la pipette graduée 17 ml de toluène, 4 ml d'acétone et 4 ml de solution d'acide acétique à 96% dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger complètement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes afin d'assurer la saturation de la cuve par les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer avec le bouchon à vis. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 12 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le front du solvant au moyen d'un trait fin, puis faire sécher tous les résidus de solvant en plaçant la plaque chromatographique sur la plaque chauffante prévue à cet effet. La plaque chauffante fonctionne au niveau le plus élevé et la plaque chromatographique est laissée là pendant une minute complète avant d'être retirée pour refroidir à la température ambiante.

### X. REVELATION DES TACHES

Après avoir séché tous les résidus de solvant, observer la plaque de chromatographie sous une lumière UV à 254 nm avec la lampe alimentée par batterie fournie. Utiliser cette méthode de détection pour l'identification et la quantification de l'irbésartan. Lorsqu'il est associé à l'hydrochlorothiazide (HCT), cet agent est à peine visible en raison de sa faible concentration et peut apparaître comme une ombre très faible sous la tache d'irbésartan lorsqu'une dose élevée d'HCT rencontre une faible dose d'irbésartan dans un comprimé et que les mesures sont effectuées dans une pièce complètement sombre. Lorsque l'irbésartan est associé à l'amlodipine, ce dernier composé peut être détecté comme une minuscule tache près de la ligne d'origine, et lorsque cette tache est irradiée par une lumière UV à 366 nm, une forte fluorescence blanche apparaît. Pour une meilleure identification de l'HCT, la solution essai du stock peut également être utilisée. Pour vérifier la teneur en HCT ou en amlodipine, se référer aux protocoles correspondants dans le manuel principal publié 2022.

### XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une forte tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,35 indique la présence d'irbésartan dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation de l'irbésartan, ce dernier cas étant plus probable lorsqu'il est associé à une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite de la solution essai peut également indiquer une faible teneur en irbésartan et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale d'irbésartan.

## CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

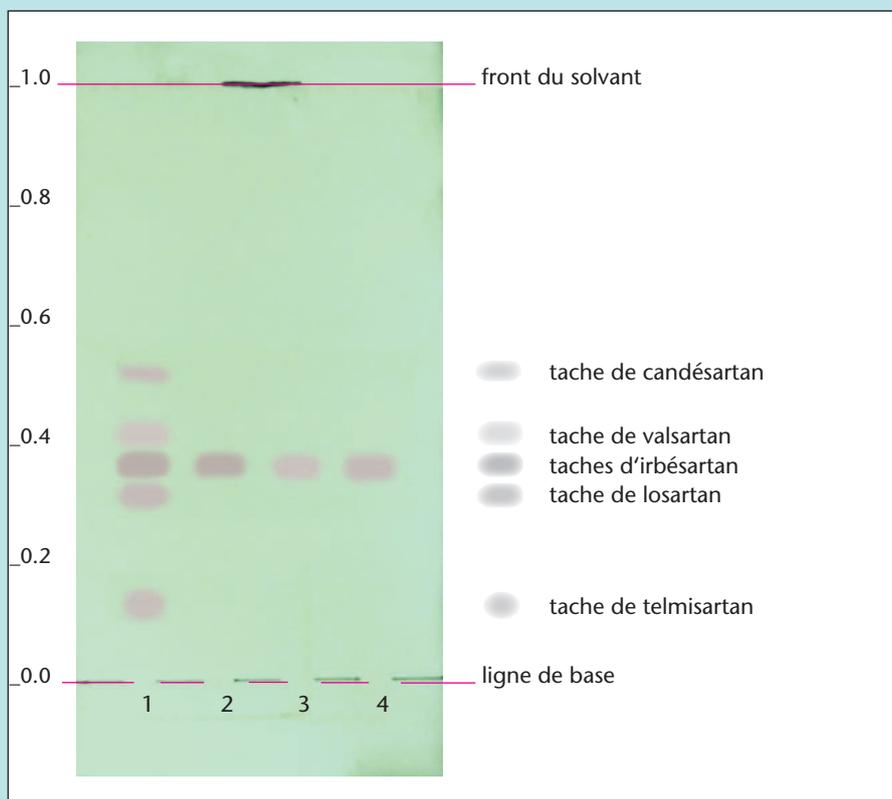
Développement. n° 1:  
Solution témoin supérieure représentant  
100% d'irbésartan total

Montrant également que la phase mobile choisie est spécifique, d'autres sartans ont été ajoutés à la solution témoin

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

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

Développement. n° 4:  
Solution témoin supérieure représentant  
80% d'irbésartan total



Les agents auxiliaires incorporés dans différents produits finis peuvent provoquer des taches plus pâles se déplaçant le long du front des solvants ou émergeant près ou sur la ligne de base. Lorsque l'hydrochlorothiazide (HCT) est associé à l'irbésartan dans un rapport favorable, dans des conditions idéales pour la lecture, une tache très faible d'HCT peut apparaître à une distance de déplacement d'environ 0,15 en dessous de la tache d'irbésartan. Dans les cas inversés, en raison de fortes dilutions, la concentration d'HCT tombera en dessous de sa limite de détection. En cas d'association avec l'amlodipine, une petite tache est visible à une distance de déplacement d'environ 0,06 près de la ligne de base. Afin de montrer que la phase mobile sélectionnée est spécifique pour de nombreux sartans, du candésartan ( $R_f = 0,53$ ), du valsartan ( $R_f = 0,41$ ), du losartan ( $R_f = 0,29$ ) et du telmisartan ( $R_f = 0,12$ ) ont été ajoutés à la solution de témoin comme indiqué ci-dessus à l'emplacement numéro 1.

## XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM

Lorsque l'irbésartan est combiné à l'amlodipine, la présence de ce dernier composé est confirmée par une forte fluorescence blanche à une distance de déplacement d'environ 0,06 très proche de la ligne de base.

## XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache d'irbésartan du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance de déplacement à celle du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. Ce résultat doit être atteint pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Rejeter 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 avis. 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 de tous les résultats avec un appareil photo numérique ou d'un smartphone avec le flash désactivé.

## 7.104 Losartan potassique combiné ou non à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine

### Examen primaire du médicament via inspection physique

#### I. INSPECTION PHYSIQUE

Lors de l'inspection visuelle, rechercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique comme décrit dans les premiers chapitres sur des méthodes et opérations générales du manuel principal publié 2022, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Chaque comprimé contient généralement 25, 50 ou 100 mg de sel de potassium de losartan. D'autres dosages sont connus. Les comprimés peuvent être associés à

15 ou 25 mg d'hydrochlorothiazide ou à 5 ou 10 mg d'amlodipine. Vérifier le poids total des comprimés ou le poids de remplissage des gélules à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Toutes les formulations de comprimés ou de gélules de losartan à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal 2022. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37 °C en moins de 30 minutes. Un échec d'un produit à libération immédiate représenterait une anomalie majeure.

#### II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les médicaments d'origine particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement sont incorrects ou manquants, à forme médicamenteuse ou à emballage défectueux, ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou écrites en langue étrangère ou conservés dans de mauvaises conditions doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

### Vérification de l'identité et de la teneur en principe actif via le test de CCM

#### I. PRINCIPE DU TEST

Qu'il soit associé ou non à d'autres médicaments cardiaques, le sel de potassium de losartan est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu de méthanol, puis son identité et sa teneur sont vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) par comparaison avec un étalon secondaire approprié. Pour les associations à doses fixes, se référer au protocole relatif à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine dans le manuel principal 2022 pour des tests supplémentaires.

#### II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- 1) Pilon
- 2) Feuille d'aluminium
- 3) Entonnoir
- 4) Spatule
- 5) Bande adhésive
- 6) Stylo feutre
- 7) Crayon et règle gradué
- 8) Fioles de verre de 10 ml
- 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml)
- 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml)
- 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F<sub>254</sub> taille 5 x 10 cm
- 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité
- 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml)
- 14) Plaque chauffante
- 15) Papier filtre
- 16) Pair de ciseaux
- 17) Pair de pincettes
- 18) Lampe UV 254 nm
- 19) Lampe UV 366 nm
- 20) Méthanol
- 21) Acétone
- 22) Toluène
- 23) Solution d'acide acétique 96%
- 24) Substance témoin, per exemple, des comprimés de losartan potassique à 50 mg

### III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 50 mg de sel de potassium de losartan. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 10 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. Fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 5 mg de losartan potassique total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Losartan'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide surnageant clair ou même trouble.

### IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMIT SUPERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 4 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 1 mg de losartan potassique total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Losartan 100%'.

Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de losartan.

### V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMIT INFERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 2 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 10,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,8 mg de losartan potassique total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Losartan 80%'.

Cette solution témoin d'usage inférieure constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de losartan potassique indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active constitue la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites des pharmacopées ne s'appliquent pas dans notre contexte.

### VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK D'UN MEDICAMENT DECLARANT UNE TENEUR EN LOSARTAN POTASSIQUE DE 25 MG PAR UNITE

Prendre un comprimé complet ou une gélule entière à partir d'un produit pharmaceutique approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, le comprimé est enveloppé dans une feuille d'aluminium et réduit en fine poudre. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 25 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans un flacon ajoutant aussi les deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 5 ml de méthanol en utilisant d'une pipette graduée appropriée. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.

#### 50 MG DE LOSARTAN POTASSIQUE PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 10 ml de méthanol avec d'une pipette graduée appropriée et extraire le losartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

#### 100 MG DE LOSARTAN POTASSIQUE PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 20 ml de méthanol à l'aide d'une pipette graduée appropriée et extraire le losartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

Qu'elles soient ou non associées à d'autres médicaments cardiovasculaires, toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 5 mg de losartan potassique total par ml et être étiquetées comme 'Solution Essai du Stock de Losartan'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.

## VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 4 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que 'Solution Essai d'Usage de Losartan'.

La concentration prévue de losartan potassique dans la solution essai d'usage est de 1 mg par ml et doit correspondre à la concentration de losartan potassique de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

## VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle et à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque de CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme il est montré sur 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. Ils 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, aux différentes concentrations de médicaments ou aux associations dans les solutions essai. 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.

Sécher les dépôts en plaçant la plaque chromatographique sur la plaque chauffante fournie. La plaque chauffante doit fonctionner au niveau maximum et le dos de la plaque chromatographique doit toucher la plaque chauffante pendant environ 15 secondes. Laisser la plaque de chromatographie reposer pendant quelques minutes et refroidir à la température ambiante avant le développement. Cette dernière étape améliore la résolution entre les taches des différents sartans.

## IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

Introduire à l'aide de la pipette graduée 17 ml de toluène, 4 ml d'acétone et 4 ml de solution d'acide acétique à 96% dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger complètement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes afin d'assurer la saturation de la cuve par les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer avec le bouchon à vis. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 12 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le front du solvant au moyen d'un trait fin, puis faire sécher tous les résidus de solvant en plaçant la plaque chromatographique sur la plaque chauffante prévue à cet effet. La plaque chauffante fonctionne au niveau le plus élevé et la plaque chromatographique est laissée là pendant une minute complète avant d'être retirée pour refroidir à la température ambiante.

## X. REVELATION DES TACHES

Après avoir séché tous les résidus de solvant, observer la plaque de chromatographie sous une lumière UV à 254 nm avec la lampe alimentée par batterie fournie. Utiliser cette méthode de détection pour l'identification et la quantification du losartan. Lorsqu'il est associé à l'hydrochlorothiazide (HCT), cet agent est à peine visible en raison de sa faible concentration et peut apparaître comme une ombre très faible sous la tache de losartan lorsqu'une dose élevée d'HCT rencontre une faible dose de losartan dans un comprimé et que les mesures sont effectuées dans une pièce complètement sombre. Lorsque le losartan est associé à l'amlodipine, ce dernier composé peut être détecté comme une minuscule tache près de la ligne d'origine, et lorsque cette tache est irradiée par une lumière UV à 366 nm, une forte fluorescence blanche apparaît. Pour une meilleure identification de l'HCT, la solution essai du stock peut également être utilisée. Pour vérifier la teneur en HCT ou en amlodipine, se référer aux protocoles correspondants dans le manuel principal publié 2022.

## XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une forte tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,29 indique la présence de losartan dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation du losartan, ce dernier cas étant plus probable lorsqu'il est associé à une tache principale plus petite. Une

## CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

### Développement. n° 1:

Solution témoin supérieure représentant 100% de losartan total

Montrant également que la phase mobile choisie est spécifique, d'autres sartans ont été ajoutés à la solution témoin

### Développement n° 2:

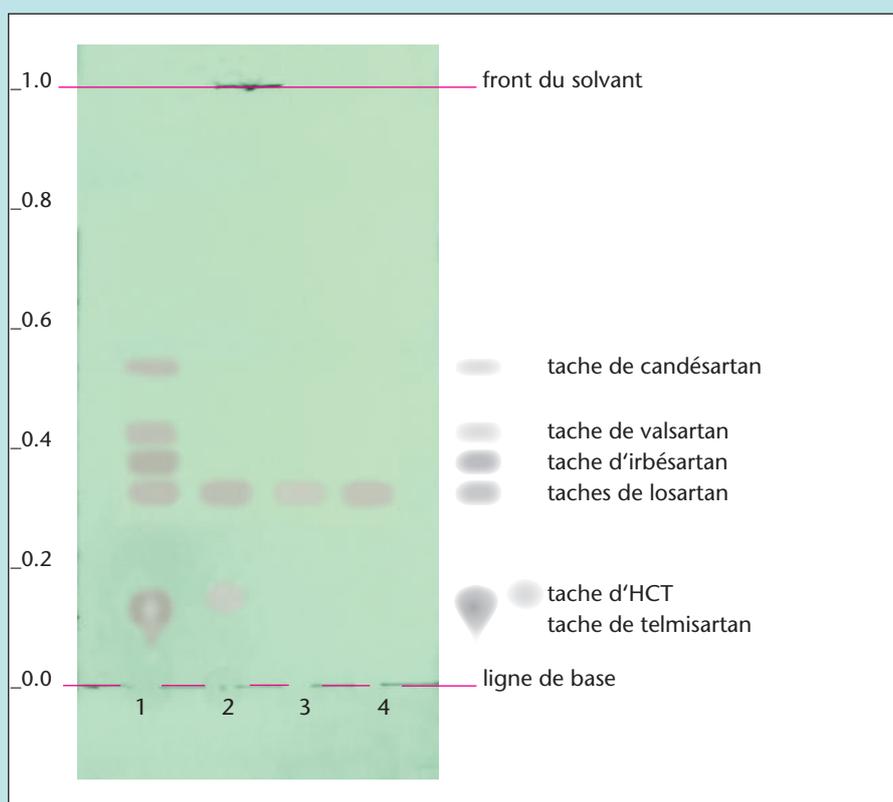
Un médicament d'association à dose fixe de bonne qualité à teneur acceptable en losartan

### Développement n° 3:

Un médicament monodosé de basse qualité à teneur faible inacceptable en losartan

### Développement. n° 4:

Solution témoin supérieure représentant 80% de losartan total



tache principale plus petite de la solution essai peut également indiquer une faible teneur en losartan et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de losartan. Les agents auxiliaires incorporés dans différents produits finis peuvent provoquer des taches plus pâles se déplaçant le long du front des solvants ou émergeant près ou sur la ligne de base. Lorsque l'hydrochlorothiazide (HCT) est associé au losartan dans un rapport favorable, dans des conditions idéales pour la lecture, une tache très faible d'HCT peut apparaître à une distance de déplacement d'environ 0,15 en dessous de la tache de losartan. Dans les cas inversés, en raison de fortes dilutions, la concentration d'HCT tombera en dessous de sa limite de détection. En cas d'association avec l'amlodipine, une petite tache est visible à une distance de déplacement d'environ 0,06 près de la ligne de base. Afin de montrer que la phase mobile sélectionnée est spécifique pour de nombreux sartans, du candésartan ( $R_f = 0,53$ ), du valsartan ( $R_f = 0,41$ ), de l'irbésartan ( $R_f = 0,35$ ) et du telmisartan ( $R_f = 0,12$ ) ont été ajoutés à la solution de témoin comme indiqué ci-dessus à l'emplacement numéro 1.

## XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM

Lorsque le losartan est combiné à l'amlodipine, la présence de ce dernier composé est confirmée par une forte fluorescence blanche à une distance de déplacement d'environ 0,06 très proche de la ligne de base.

## XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de losartan du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance de déplacement à celle du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. Ce résultat doit être atteint pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est pas le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Rejeter 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 avis. 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 de tous les résultats avec un appareil photo numérique ou d'un smartphone avec le flash désactivé.

## Examen primaire du médicament via inspection physique

### I. INSPECTION PHYSIQUE

Lors de l'inspection visuelle, rechercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique comme décrit dans les premiers chapitres sur des méthodes et opérations générales du manuel principal publié 2022, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. La méthylidopa se présente fréquemment sous la forme de son sesquihydrate. Chaque comprimé contient généralement 125, 250 ou 500 mg de méthylidopa anhydre. Les

comprimés peuvent être associés à 15 ou 25 mg d'hydrochlorothiazide. Vérifier le poids total des comprimés ou le poids de remplissage des gélules à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Toutes les formulations de comprimés ou de gélules de méthylidopa à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal 2022. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37 °C en moins de 30 minutes. Un échec d'un produit à libération immédiate représenterait une anomalie majeure.

### II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les médicaments d'origine particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement sont incorrects ou manquants, à forme médicamenteuse ou à emballage défectueux, ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou écrites en langue étrangère ou conservés dans de mauvaises conditions doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

## Vérification de l'identité et de la teneur en principe actif via le test de CCM

### I. PRINCIPE DU TEST

La méthylidopa anhydre et la méthylidopa sesquihydrate, également en combinaison avec l'hydrochlorothiazide, sont extraites des comprimés ou des capsules avec un volume connu de méthanol acidifié, puis leur identité et leur teneur sont vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) par comparaison avec un étalon secondaire approprié. Pour les associations à doses fixes, se référer au protocole relatif à l'hydrochlorothiazide dans le manuel principal 2022 pour des tests supplémentaires.

### II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- |  |  |
|--|--|
| 1) Pilon   | 13) Cuve chromatographique (réipient de 500 ml)                          |
| 2) Feuille d'aluminium   | 14) Plaque chauffante  |
| 3) Entonnoir   | 15) Papier filtre  |
| 4) Spatule   | 16) Pair de ciseaux  |
| 5) Bande adhésive  | 17) Pair de pincettes  |
| 6) Stylo feutre  | 18) Lampe UV 254 nm  |
| 7) Crayon et règle gradué  | 19) Cuve de révélation à l'iode (réipient de 500 ml)                     |
| 8) Fioles de verre de 10 ml  | 20) Eau distillée ou potable   |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml)   | 21) Méthanol   |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml)  | 22) Butan-1-ol   |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F <sub>254</sub> taille 5 x 10 cm | 23) Acétone  |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité  | 24) Solution d'acide acétique 96%  |
|  | 25) Solution d'acide chlorhydrique 32%                                   |
|  | 26) Substance témoin, per exemple, des comprimés de méthylidopa à 125 mg |

### III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 125 mg de méthylidopa. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 12 ml de méthanol en utilisant une pipette gra-

duée. Enfin, ajouter au mélange existant 0,5 ml de solution d'acide chlorhydrique à 32%, fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 10 mg de méthylidopa totale par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Méthylidopa'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide surnageant clair ou même trouble.

#### IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMIT SUPERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 0,5 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,5 mg de méthylidopa totale par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Méthylidopa 100%'.

Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de méthylidopa.

#### V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMIT INFERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 0,5 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 12 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,4 mg de méthylidopa totale par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Méthylidopa 80%'.

Cette solution témoin d'usage inférieure constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de méthylidopa indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active constitue la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites des pharmacopées ne s'appliquent pas dans notre contexte.

#### VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK D'UN MEDICAMENT DECLARANT UNE TENEUR EN METHYLDOPA DE 125 MG PAR UNITE

Prendre un comprimé complet ou une gélule entière à partir d'un produit pharmaceutique approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, le comprimé est enveloppé dans une feuille d'aluminium et réduit en fine poudre. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 25 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans un flacon ajoutant aussi les deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 12 ml de méthanol suivis de 0,5 ml de solution d'acide chlorhydrique à 32% en utilisant des pipettes graduées appropriées. Ensuite, fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.

##### 250 MG DE METHYLDOPA PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 50 ml, ajouter 24 ml de méthanol suivis de 1 ml de solution d'acide chlorhydrique 32 % avec des pipettes graduées appropriées et extraire la méthylidopa. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

##### 500 MG DE METHYLDOPA PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 100 ml, ajouter 48 ml de méthanol suivis de 2 ml de solution d'acide chlorhydrique 32 % avec des pipettes graduées appropriées et extraire la méthylidopa. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

Qu'elles soient ou non associées à d'autres médicaments, toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 10 mg de méthylidopa totale par ml et être étiquetées comme 'Solution Essai du Stock de Méthylidopa'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.

## VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Introduire à l'aide de la pipette graduée 0,5 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9,5 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que 'Solution Essai d'Usage de Méthylidopa'.

La concentration prévue de méthylidopa dans la solution essai d'usage est de 0,5 mg par ml et doit correspondre à la concentration de méthylidopa de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

## VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle et à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque de CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme il est montré sur 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 toutes les taches sous une lampe UV de 254 nm. Ils 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, aux différentes concentrations de médicaments ou aux associations dans les solutions essai. Une différence dans la taille de la tache cependant, est due à un mauvais dépôt. Répéter cette étape si les taches ne présentent pas de forme homogène la première fois.

Sécher les taches en plaçant la plaque de chromatographie sur la plaque chauffante fournie. La plaque chauffante doit fonctionner au niveau maximum et le dos de la plaque chromatographique doit toucher la plaque chauffante pendant environ 15 secondes.

## IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

Introduire à l'aide de la pipette graduée 12 ml de butan-1-ol, 4 ml d'acétone, 3,5 ml d'eau et 0,5 ml de solution d'acide acétique à 96% dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger complètement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes afin d'assurer la saturation de la cuve par les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer avec le bouchon à vis. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 40 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le front du solvant au moyen d'un trait fin, puis faire sécher tous les résidus de solvant en plaçant la plaque chromatographique sur la plaque chauffante prévue à cet effet. La plaque chauffante fonctionne au niveau le plus élevé et la plaque chromatographique est laissée là pendant une minute complète avant d'être retirée pour refroidir à la température ambiante.

## X. REVELATION DES TACHES

Après avoir séché tous les résidus de solvant, observer la plaque de chromatographie sous une lumière UV à 254 nm avec la lampe alimentée par batterie fournie. La méthylidopa est à peine visible. Pour une identification et une quantification plus poussées, colorer la plaque de chromatographie avec des vapeurs d'iode. Tout d'abord, observer à nouveau la plaque de chromatographie colorée sous une lumière UV à 254 nm. Tous les taches faibles précédemment observés deviennent alors beaucoup plus intensives. Lorsque la plaque d'iode est chauffée, toutes les taches de méthylidopa colorées à l'iode deviennent grises à noires selon la gamme de la concentration des différentes solutions d'usage. Noter que ce changement de couleur ne se produit pas seulement avec la méthylidopa mais avec tous les agents apparentés à la méthylidopa, par exemple avec la lévodopa ou la carbidopa, le changement de couleur étant le plus faible avec la carbidopa. Utiliser ces taches noires pour la lecture finale et l'interprétation de la plaque chromatographique. Encore une fois, les lectures peuvent devenir plus claires en réexposant la plaque d'iode chauffée à la lumière UV de 254 nm. Si la méthylidopa est combinée à l'hydrochlorothiazide (HCT), ce dernier composé restera invisible en raison de sa dilution en dessous du seuil de détection. Cependant, la présence de l'HCT peut être mieux confirmée si une solution du stock de méthylidopa appropriée est utilisée pour le test CCM. Ceci est pour une identification rapide de l'HCT; pour une semi-quantification plus poussée, se référer au protocole de test de l'HCT dans le manuel principal publié 2022.

CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'IODE SUIVIE D'UN CHAUFFAGE

Développement n° 1:

Solution témoin supérieure représentant 100% de la méthylidopa totale

Développement n° 2:

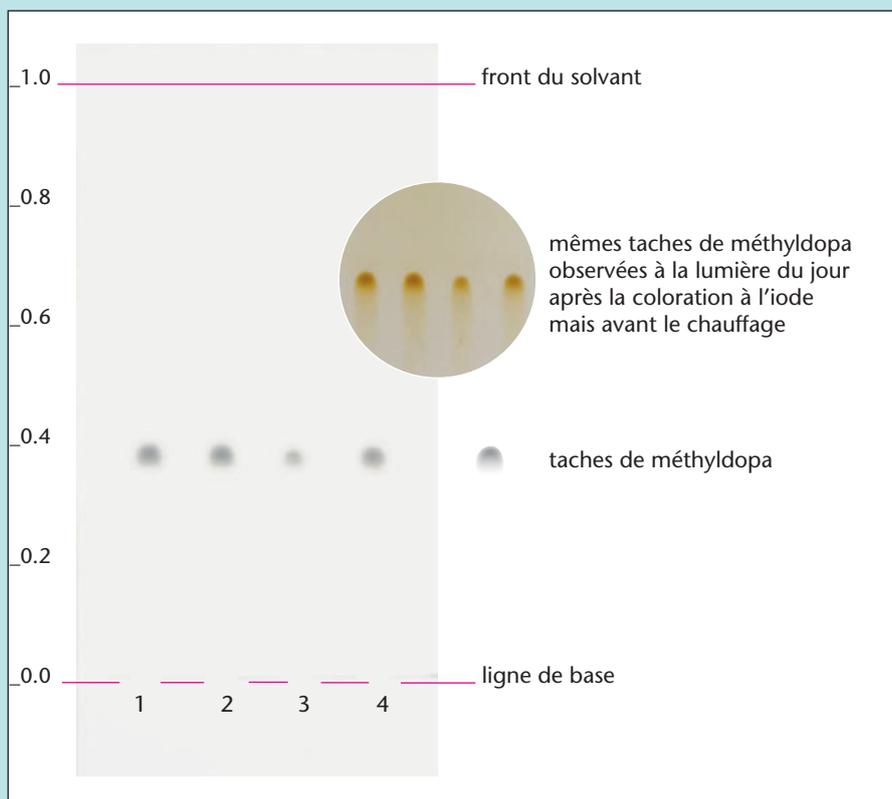
Un médicament de bonne qualité à teneur acceptable en méthylidopa

Développement n° 3:

Un médicament de basse qualité à teneur faible inacceptable en méthylidopa

Développement n° 4:

Solution témoin inférieure représentant 80% de la méthylidopa totale



XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une forte tache foncée à une distance de déplacement d'environ 0,38 indique la présence de méthylidopa dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation de la méthylidopa, ce dernier cas étant plus probable lorsqu'il est associé à une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite de la solution essai peut également indiquer une faible teneur en méthylidopa et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de méthylidopa. Les agents auxiliaires incorporés dans différents produits finis peuvent provoquer des taches plus pâles se déplaçant le long du front des solvants ou émergeant près ou sur la ligne de base. Les autres agents apparentés à la méthylidopa sont clairement séparés de la tache de méthylidopa et leurs facteurs de rétention relatifs sont les suivants : environ 0,31 pour la lévodopa et environ 0,78 pour la carbidopa. Lorsque l'hydrochlorothiazide (HCT) est associé à la méthylidopa dans un rapport favorable, une tache d'HCT peut devenir visible à une distance de déplacement d'environ 0,87.

XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'IODE SUIVIE D'UN CHAUFFAGE

Si l'on expose en plus la plaque d'iode à la chaleur, toutes les taches de méthylidopa précédemment observées à 254 nm et à la lumière du jour après coloration à l'iode deviennent grises, les différentes nuances et tailles indiquant les différentes concentrations de méthylidopa. D'autres agents apparentés, par exemple la lévodopa et la carbidopa, se comportent de la même manière. Cependant, ce changement de couleur est plus faible avec la carbidopa.

XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de méthylidopa du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance de déplacement à celle du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. Ce résultat doit être atteint pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Rejeter 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 avis. 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 de tous les résultats avec un appareil photo numérique ou d'un smartphone avec le flash désactivé.

## Examen primaire du médicament via inspection physique

### I. INSPECTION PHYSIQUE

Lors de l'inspection visuelle, rechercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique comme décrit dans les premiers chapitres sur des méthodes et opérations générales du manuel principal publié 2022, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Chaque comprimé contient généralement 20, 40 ou 80 mg de telmisartan. D'autres dosages sont connus. Les comprimés peuvent être asso-

ciés à 15 ou 25 mg d'hydrochlorothiazide ou à 5 ou 10 mg d'amlodipine. Vérifier le poids total des comprimés ou le poids de remplissage des gélules à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Toutes les formulations de comprimés ou de gélules de telmisartan à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal 2022. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37 °C en moins de 30 minutes. Un échec d'un produit à libération immédiate représenterait une anomalie majeure.

### II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les médicaments d'origine particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement sont incorrects ou manquants, à forme médicamenteuse ou à emballage défectueux, ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou écrites en langue étrangère ou conservés dans de mauvaises conditions doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

## Vérification de l'identité et de la teneur en principe actif via le test de CCM

### I. PRINCIPE DU TEST

Qu'il soit associé ou non à d'autres médicaments cardiaques, le telmisartan est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu de solution de méthanol ammoniacal, puis son identité et son contenu sont vérifiés par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un étalon secondaire approprié. Pour les associations à doses fixes, se référer au protocole relatif à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine dans le manuel principal 2022 pour des tests supplémentaires.

### II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- |  |   |
|--|---|
| 1) Pilon   | 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml)                        |
| 2) Feuille d'aluminium   | 14) Plaque chauffante   |
| 3) Entonnoir   | 15) Papier filtre   |
| 4) Spatule   | 16) Pair de ciseaux   |
| 5) Bande adhésive  | 17) Pair de pincettes   |
| 6) Stylo feutre  | 18) Lampe UV 254 nm   |
| 7) Crayon et règle gradué  | 19) Lampe UV 366 nm   |
| 8) Fioles de verre de 10 ml  | 20) Méthanol  |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml)   | 21) Acétate d'éthyle  |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml)  | 22) Solution d'acide acétique 96%                                       |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F <sub>254</sub> taille 5 x 10 cm | 23) Solution d'ammoniaque 25%   |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité  | 24) Substance témoin, par exemple, des comprimés de telmisartan à 20 mg |

### III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 20 mg de telmisartan. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 7,5 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. À l'aide d'une nouvelle pipette, ajouter au mélange existant 0,5 ml de solution d'ammoniaque à 25 %, fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 2,5 mg de telmisartan total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Telmisartan'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide surnageant clair ou même trouble.

#### IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMIT SUPERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 4 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,5 mg de telmisartan total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de Telmisartan 100%*'.

Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de telmisartan.

#### V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMIT INFERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 2 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 10,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,4 mg de telmisartan total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de Telmisartan 80%*'.

Cette solution témoin d'usage inférieure constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de telmisartan indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active constitue la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites des pharmacopées ne s'appliquent pas dans notre contexte.

#### VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK D'UN MEDICA- MENT DECLARANT UNE TENEUR EN TELMISARTAN DE 20 MG PAR UNITE

Prendre un comprimé complet ou une gélule entière à partir d'un produit pharmaceutique approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, le comprimé est enveloppé dans une feuille d'aluminium et réduit en fine poudre. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 25 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans un flacon ajoutant aussi les deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 7,5 ml de méthanol suivis de 0,5 ml de solution d'ammoniaque à 25% en utilisant des pipettes graduées appropriées. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.

##### 30 MG DE TELMISARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 11,25 ml de méthanol puis 0,75 ml de solution d'ammoniaque à 25% avec des pipettes graduées appropriées et extraire le telmisartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

##### 40 MG DE TELMISARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 15 ml de méthanol suivis de 1 ml de solution d'ammoniaque à 25% à l'aide de pipettes graduées appropriées et extraire le telmisartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

##### 60 MG DE TELMISARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 50 ml, ajouter 22,5 ml de méthanol suivis de 1,5 ml de solution d'ammoniaque à 25% à l'aide de pipettes graduées appropriées et extraire le telmisartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

##### 80 MG DE TELMISARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 30 ml de méthanol suivis de 2 ml de solution d'ammoniaque à 25% à l'aide de pipettes graduées appropriées et extraire le telmisartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

Qu'elles soient ou non associées à d'autres médicaments cardiovasculaires, toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 2,5 mg de telmisartan total par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Telmisartan*'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.

## VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 4 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que 'Solution Essai d'Usage de Telmisartan'.

La concentration prévue de telmisartan dans la solution essai d'usage est de 0,5 mg par ml et doit correspondre à la concentration de telmisartan de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

## VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle et à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque de CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme il est montré sur 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. Ils 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, aux différentes concentrations de médicaments ou aux associations dans les solutions essai. 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.

Sécher délicatement les dépôts. Pour ce faire, tenir la plaque chromatographique avec la paire de pincettes dans le flux d'air chaud juste directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ 2 minutes jusqu'à ce que l'odeur de la solution d'ammoniaque ait presque disparu. Pendant l'agitation, le dos de la plaque de chromatographie peut toucher directement la plaque chauffante pendant une fraction de seconde chaque fois que la plaque CCM se balance d'avant en arrière.

## IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

Introduire à l'aide de la pipette graduée 18 ml d'acétate d'éthyle, 2 ml de méthanol et 1 ml de solution d'acide acétique à 96% dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger complètement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes afin d'assurer la saturation de la cuve par les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer avec le bouchon à vis. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 12 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le front du solvant au moyen d'un trait fin, puis faire sécher tous les résidus de solvant en plaçant la plaque chromatographique sur la plaque chauffante prévue à cet effet. La plaque chauffante fonctionne au niveau le plus élevé et la plaque chromatographique est laissée là pendant une minute complète avant d'être retirée pour refroidir à la température ambiante.

## X. REVELATION DES TACHES

Après avoir séché tous les résidus de solvant, observer la plaque de chromatographie sous une lumière UV à 254 nm avec la lampe alimentée par batterie fournie. Utiliser cette méthode de détection pour l'identification et la quantification du telmisartan. Lorsqu'il est associé à l'hydrochlorothiazide (HCT), cet agent est à peine visible en raison de sa faible concentration et peut apparaître comme une ombre très faible au-dessus la tache de telmisartan lorsqu'une dose élevée d'HCT rencontre une faible dose de telmisartan dans un comprimé et que les mesures sont effectuées dans une pièce complètement sombre. Lorsque le telmisartan est associé à l'amlodipine, ce dernier composé peut être détecté comme une minuscule tache près de la ligne d'origine, et lorsque cette tache est irradiée par une lumière UV à 366 nm, une forte fluorescence blanche apparaît. Pour une meilleure identification de l'HCT, la solution essai du stock peut également être utilisée. Pour vérifier la teneur en HCT ou en amlodipine, se référer aux protocoles correspondants dans le manuel principal publié 2022.

## XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une forte tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,46 indique la présence de telmisartan dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation du telmisartan, ce

## CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

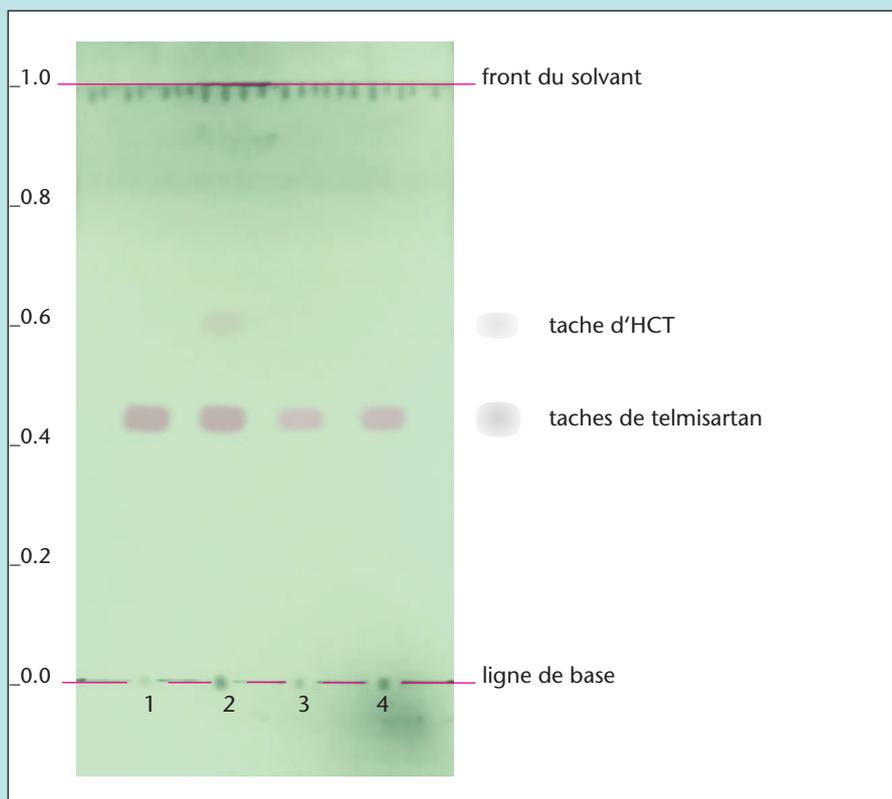
Développement. n° 1:  
Solution témoin supérieure représentant 100% de telmisartan total

Montrant également que la phase mobile choisie est spécifique, d'autres sartans ont été ajoutés à la solution témoin

Développement n° 2:  
Un médicament d'association à dose fixe de bonne qualité à teneur acceptable en telmisartan

Développement n° 3:  
Un médicament monodosé de basse qualité à teneur faible inacceptable en telmisartan

Développement. n° 4:  
Solution témoin supérieure représentant 80% de telmisartan total



dernier cas étant plus probable lorsqu'il est associé à une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite de la solution essai peut également indiquer une faible teneur en telmisartan et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de telmisartan. Les agents auxiliaires incorporés dans différents produits finis peuvent provoquer des taches plus pâles se déplaçant le long du front des solvants ou émergeant près ou sur la ligne de base. Lorsque l'hydrochlorothiazide (HCT) est associé au telmisartan dans un rapport favorable, dans des conditions idéales pour la lecture, une tache HCT très faible peut apparaître à une distance de déplacement d'environ 0,59 au-dessus de la tache de telmisartan. Dans les cas inversés, en raison de fortes dilutions, la concentration d'HCT tombera en dessous de sa limite de détection. En cas d'association avec l'amlodipine, une petite tache est visible à une distance de déplacement d'environ 0,03 près de la ligne de base. D'autres sartans sont bien séparés et se déposeront bien au-dessus de la tache de telmisartan, par exemple le candésartan à environ  $R_f = 0,68$ , l'irbésartan à environ  $R_f = 0,62$ , le losartan à environ  $R_f = 0,61$  et le valsartan à environ  $R_f = 0,64$ .

## XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM

Lorsque le telmisartan est combiné à l'amlodipine, la présence de ce dernier composé est confirmée par une forte fluorescence blanche à une distance de déplacement d'environ 0,03 très proche de la ligne de base.

## XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de telmisartan du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance de déplacement à celle du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. Ce résultat doit être atteint pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Rejeter 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 avis. 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 de tous les résultats avec un appareil photo numérique ou d'un smartphone avec le flash désactivé.

## Examen primaire du médicament via inspection physique

### I. INSPECTION PHYSIQUE

Lors de l'inspection visuelle, rechercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique comme décrit dans les premiers chapitres sur des méthodes et opérations générales du manuel principal publié 2022, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Chaque comprimé contient généralement 80, 160 ou 320 mg de valsartan. D'autres dosages sont connus. Les comprimés peuvent être associés à 15 ou 25 mg d'hydrochlorothiazide

ou à 5 ou 10 mg d'amlodipine et se présenter sous la forme d'un produit combiné à double, voire triple, dose fixe. Vérifier le poids total des comprimés ou le poids de remplissage des gélules à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Toutes les formulations de comprimés ou de gélules de valsartan à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal 2022. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37 °C en moins de 30 minutes. Un échec d'un produit à libération immédiate représenterait une anomalie majeure.

### II. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

Les médicaments d'origine particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement sont incorrects ou manquants, à forme médicamenteuse ou à emballage défectueux, ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou écrites en langue étrangère ou conservés dans de mauvaises conditions doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

## Vérification de l'identité et de la teneur en principe actif via le test de CCM

### I. PRINCIPE DU TEST

Qu'il soit associé ou non à d'autres médicaments cardiaques, le valsartan est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu de méthanol, puis son identité et sa teneur sont vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) par comparaison avec un étalon secondaire approprié. Pour les associations à doses fixes, se référer au protocole relatif à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine dans le manuel principal 2022 principal 2022 pour des tests supplémentaires.

### II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- |  |   |
|--|---|
| 1) Pilon   | 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml)                      |
| 2) Feuille d'aluminium   | 14) Plaque chauffante   |
| 3) Entonnoir   | 15) Papier filtre   |
| 4) Spatule   | 16) Pair de ciseaux   |
| 5) Bande adhésive  | 17) Pair de pincettes   |
| 6) Stylo feutre  | 18) Lampe UV 254 nm   |
| 7) Crayon et règle gradué  | 19) Lampe UV 366 nm   |
| 8) Fioles de verre de 10 ml  | 20) Méthanol  |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml)   | 21) Acétone   |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml)  | 22) Toluène   |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F <sub>254</sub> taille 5 x 10 cm | 23) Solution d'acide acétique 96%                                     |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité  | 24) Substance témoin, par exemple, des comprimés de valsartan à 80 mg |

### III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 80 mg de valsartan. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 8 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. Fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 10 mg de valsartan total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Valsartan'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide surnageant clair ou même trouble.

IV. PREPARATION DE LA SOLUTION  
TEMOIN D'USAGE 100%  
(LIMIT SUPERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 1 mg de valsartan total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de Valsartan 100%*'.

Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de valsartan.

V. PREPARATION DE LA SOLUTION  
TEMOIN D'USAGE 80%  
(LIMIT INFERIEURE)

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 11,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,8 mg de valsartan total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de Valsartan 80%*'.

Cette solution témoin d'usage inférieure constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de valsartan indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active constitue la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites des pharmacopées ne s'appliquent pas dans notre contexte.

VI. PREPARATION DE LA SOLUTION  
ESSAI DU STOCK D'UN MEDICAMENT  
DECLARANT UNE TENEUR  
EN VALSARTAN DE 80 MG PAR  
UNITE

Prendre un comprimé complet ou une gélule entière à partir d'un produit pharmaceutique approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, le comprimé est enveloppé dans une feuille d'aluminium et réduit en fine poudre. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 25 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans un flacon ajoutant aussi les deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 8 ml de méthanol en utilisant d'une pipette graduée appropriée. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.

160 MG DE VALSARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 16 ml de méthanol avec d'une pipette graduée appropriée et extraire le valsartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

320 MG DE VALSARTAN PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 50 ml, ajouter 32 ml de méthanol à l'aide d'une pipette graduée appropriée et extraire le valsartan. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

Qu'elles soient ou non associées à d'autres médicaments cardiovasculaires, toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 10 mg de valsartan total par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Valsartan*'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION  
ESSAI D'USAGE

Introduire à l'aide de la pipette graduée 1 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que '*Solution Essai d'Usage de Valsartan*'.

La concentration prévue de valsartan dans la solution essai d'usage est de 1 mg par ml et doit correspondre à la concentration de valsartan de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

### VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle et à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque de CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme il est montré sur 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. Ils 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, aux différentes concentrations de médicaments ou aux associations dans les solutions essai. 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.

Sécher les dépôts en plaçant la plaque chromatographique sur la plaque chauffante fournie. La plaque chauffante doit fonctionner au niveau maximum et le dos de la plaque chromatographique doit toucher la plaque chauffante pendant environ 15 secondes. Laisser la plaque de chromatographie reposer pendant quelques minutes et refroidir à la température ambiante avant le développement. Cette dernière étape améliore la résolution entre les taches des différents sartans.

### IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

Introduire à l'aide de la pipette graduée 17 ml de toluène, 4 ml d'acétone et 4 ml de solution d'acide acétique à 96% dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger complètement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes afin d'assurer la saturation de la cuve par les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer avec le bouchon à vis. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 12 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le front du solvant au moyen d'un trait fin, puis faire sécher tous les résidus de solvant en plaçant la plaque chromatographique sur la plaque chauffante prévue à cet effet. La plaque chauffante fonctionne au niveau le plus élevé et la plaque chromatographique est laissée là pendant une minute complète avant d'être retirée pour refroidir à la température ambiante.

### X. REVELATION DES TACHES

Après avoir séché tous les résidus de solvant, observer la plaque de chromatographie sous une lumière UV à 254 nm avec la lampe alimentée par batterie fournie. Utiliser cette méthode de détection pour l'identification et la quantification du valsartan. Lorsqu'il est associé à l'hydrochlorothiazide (HCT), cet agent est à peine visible en raison de sa faible concentration et peut apparaître comme une ombre très faible sous la tache de valsartan lorsqu'une dose élevée d'HCT rencontre une faible dose de valsartan dans un comprimé et que les mesures sont effectuées dans une pièce complètement sombre. Lorsque le valsartan est associé à l'amlodipine, ce dernier composé peut être détecté comme une minuscule tache près de la ligne d'origine, et lorsque cette tache est irradiée par une lumière UV à 366 nm, une forte fluorescence blanche apparaît. Pour une meilleure identification de l'HCT, la solution essai du stock peut également être utilisée. Pour vérifier la teneur en HCT ou en amlodipine, se référer aux protocoles correspondants dans le manuel principal publié 2022.

### XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une forte tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,41 indique la présence de valsartan dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation du valsartan, ce dernier cas étant plus probable lorsqu'il est associé à une tache principale plus petite. Une tache principale plus petite de la solution essai peut également indiquer une faible teneur en valsartan et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de valsartan. Les agents auxiliaires incorporés dans différents produits finis peuvent provoquer des taches

## CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

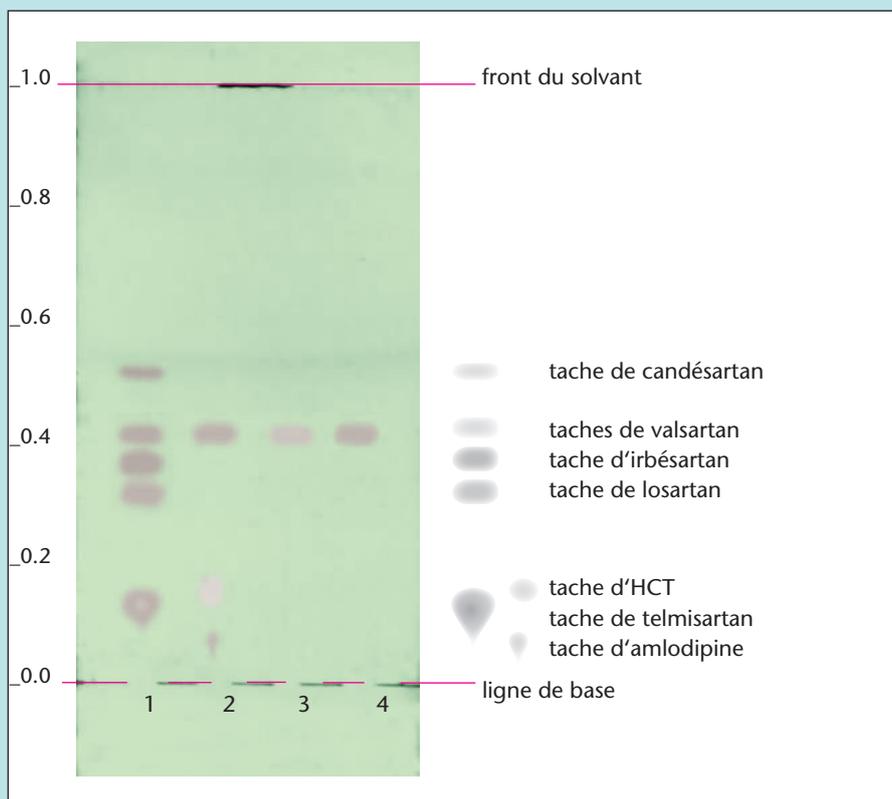
Développement. n° 1:  
Solution témoin supérieure représentant 100% de valsartan total

Montrant également que la phase mobile choisie est spécifique, d'autres sartans ont été ajoutés à la solution témoin

Développement n° 2:  
Un médicament d'association à dose fixe triple de bonne qualité à teneur acceptable en valsartan

Développement n° 3:  
Un médicament monodosé de basse qualité à teneur faible inacceptable en valsartan

Développement. n° 4:  
Solution témoin supérieure représentant 80% de valsartan total



plus pâles se déplaçant le long du front des solvants ou émergeant près ou sur la ligne de base. Lorsque l'hydrochlorothiazide (HCT) est associé au valsartan dans un rapport favorable, dans des conditions idéales pour la lecture, une tache très faible d'HCT peut apparaître à une distance de déplacement d'environ 0,15 en dessous de la tache de valsartan. Dans les cas inversés, en raison de fortes dilutions, la concentration d'HCT tombera en dessous de sa limite de détection. En cas d'association avec l'amlodipine, une petite tache est visible à une distance de déplacement d'environ 0,06 près de la ligne de base. Afin de montrer que la phase mobile sélectionnée est spécifique pour de nombreux sartans, du candésartan ( $R_f = 0,53$ ), de l'irbésartan ( $R_f = 0,35$ ), du losartan ( $R_f = 0,29$ ) et du telmisartan ( $R_f = 0,12$ ) ont été ajoutés à la solution de témoin comme indiqué ci-dessus à l'emplacement numéro 1.

## XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM

Lorsque le valsartan est combiné à l'amlodipine, la présence de ce dernier composé est confirmée par une forte fluorescence blanche à une distance de déplacement d'environ 0,06 très proche de la ligne de base.

## XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de valsartan du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance de déplacement à celle du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. Ce résultat doit être atteint pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est pas le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Rejeter 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 avis. 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 de tous les résultats avec un appareil photo numérique ou d'un smartphone avec le flash désactivé.

- Pour détecter les médicaments falsifiés et de qualité inférieure dans les pays à revenu faible ou intermédiaire
- Pour protéger les consommateurs et les chaînes d'approvisionnement en médicaments
- Pour augmenter les capacités d'analyse des médicaments prioritaires
- Pour aider à la surveillance de la qualité des médicaments après leur mise sur le marché
- Pour compléter le travail des laboratoires de contrôle des médicaments existants

#### Le GPHF-Minilab™

est un laboratoire miniature unique qui propose des méthodes d'essai abordables pour une détection rapide et facile des médicaments falsifiés et de qualité inférieure en tant que technologie d'entrée de gamme pour les établissements de soin de santé aux ressources limitées dans les pays à revenu faible ou intermédiaire.

En plus de vingt ans de travail de projet, le GPHF-Minilab™ a fait ses preuves dans près de 100 pays.

Ce supplément électronique au Minilab-Manuel 2022 imprimé étend la liste des médicaments cardiovasculaires à un total de quatorze ingrédients pharmaceutiques actifs, y compris leurs associations à dose fixe, pour le traitement des troubles cardiovasculaires.

La version imprimée étendue 2022 de l'inventaire des méthodes du manuel GPHF-Minilab™ comprend désormais une collection de méthodes de test pour 107 ingrédients pharmaceutiques actifs pour la vérification rapide de la qualité d'une large gamme de produits pharmaceutiques finis.



Global Pharma Health Fund  
[www.gphf.org](http://www.gphf.org)