

Manuel

Accompagnant le GPHF Minilab®

Supplément 2010

Volume II

TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE



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



U.S. PHARMACOPEIA
DRUG QUALITY AND
INFORMATION PROGRAM

SUPPLÉMENT 2010 AU VOLUME II DES TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Rédigé par

Richard W. O. Jähnke, Kornelia Dwornik, Volker Rubeau et Souly Phanouvong

* * *

Revu par

Adrian Barojas, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Yanga Dijiba, Mustapha Hajjou et Patrick Lukulay

* * *

Publié par

le Global Pharma Health Fund (GPHF), une organisation caritative créée et soutenue par Merck Darmstadt · Allemagne, et le United States Pharmacopeia Drug Quality and Information Program (USP DQI)

* * *

Copyright © GPHF & USP DQI

* * *

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 DQI 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 Mondiale pour la Santé (OMS) estime qu'une proportion 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.

Afin de lutter contre les médicaments anti-infectieux contrefaits ou de qualité substandard 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 dix ans, les GPHF-Minilabs agissent en tant que défense de première ligne dans le combat contre l'infiltration de médicaments contrefaits et de qualité substandard menaçant la santé de millions d'individus dans les pays en voie de développement. Dans le monde entier, plus de 350 Minilabs ont déjà été fournis dans 70 pays à travers l'Afrique, l'Asie et l'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 U.S. Pharmacopeia Drug Quality and Information Program 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 durable de contrôle de qualité des médicaments, simple et de coût abordable dans les pays à bas revenus, constitue un des moteurs principaux dans la mise au point de nouveaux protocoles de tests pour le GPHF-Minilab®. La nécessité de généralisation des tests constitue aussi le point de départ d'une collaboration plus étroite avec nos partenaires actifs aux Etats-Unis. Afin de contribuer à une meilleure situation sanitaire dans les pays en voie de développement, d'autres partenaires sont invités à se joindre à nous.

* * *

Réalisé par Grimm Grafik Design

Table des Matières

	Page
Nouvelles procédures individuelles de test chromatographique.	4
<i>Supplément au volume II, chapitre 6</i>	
<i>D'autres médicaments antipaludéens, antibactériens, antituberculeux et anthelminthiques</i>	
6.42 Albendazole	4
6.43 Atovaquone (y compris les produits combinés de proguanil)	8
6.44 Céfixime	12
6.45 Céfuroxime axétil	16
6.46 Halofantrine	20
6.47 Lévofloxacine	24
6.48 Moxifloxacine	28
6.49 Proguanil	32
6.50 Protionamide	36
Tableau synoptique des procédures de test chromatographique	40
<i>Supplément au volume II, chapitre 7</i>	
Liste actualisée des substances témoin du GPHF-Minilab®	41
<i>Supplément au volume II, chapitre 10</i>	
Santé & Sécurité	43

6.50 Protionamide

Examen Primaire du Médicament via Inspection Visuelle & Test de Désintégration

I. INSPECTION VISUELLE & 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. Tout comprimé ou toute gélule doit contenir 250 mg de protionamide.

II. TEST DE DESINTEGRATION

Tous les comprimés et gélules de protionamide à libération rapide doivent réussir le test de désintégration tel qu'il est 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 & MESURES A PRENDRE

Les produits pharmaceutiques particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement manquent ou sont incorrects, à forme médicamenteuse 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

La protionamide est extraite des comprimés et gélules à l'aide de méthanol et déterminée par chromatographie sur couche mince (CCM) en référence à une substance témoin.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- 1) Pilon
- 2) Feuille d'aluminium
- 3) Entonnoir
- 4) Bande adhésive
- 5) Stylo feutre
- 6) Crayon
- 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 F 254, 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 de révélation à l'iode (récipient de 500 ml)
- 19) Acétate d'éthyle
- 20) Méthanol
- 21) Substance témoin, des comprimés de protionamide à 250 mg, par exemple

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, des comprimés par exemple, contenant 250 mg de protonamide. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre en utilisant un pilon. Verser le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de verre de laboratoire de 40 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 25 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plus grande partie des solides. Laisser reposer 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 protonamide par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin du Stock de Protonamide*'. Ne préparer cette solution que juste avant la réalisation du test. Continuer à travailler avec le liquide clair ou trouble.

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

A l'aide d'une pipette graduée, introduire 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 3 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 2,5 mg de protonamide par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de Protonamide 100%*'.

Cette solution témoin d'usage supérieure représente un produit de bonne qualité contenant 100 % de protonamide.

V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMITE INFÉRIEURE)

A l'aide d'une pipette graduée, introduire 1 ml de la 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 2 mg de protonamide par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin d'Usage de Protonamide 80%*'.

Cette solution témoin d'usage inférieure représente un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de protonamide comme l'indique l'étiquette du médicament. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active représente la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné.

VI. PREPARATION D'UNE SOLUTION ESSAI DU STOCK D'UN MÉDICAMENT DECLARANT UNE TENEUR EN PROTONAMIDE A 250 MG L'UNITE

Prendre un comprimé entier ou une gélule à partir d'un produit pharmaceutique, prélevé en magasin ou sur le marché; comme à l'habitude, envelopper un comprimé dans une feuille d'aluminium et le broyer finement. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de verre de laboratoire de 40 ml. Le contenu obtenu à partir d'une gélule doit être introduit directement dans le flacon, ainsi que les deux parties de l'enveloppe de gélule. Pour l'extraction, ajouter 25 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée; fermer ensuite 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.

Toutes les solutions essai du stock produites doivent finalement contenir 10 mg de substance active par ml et être étiquetées en tant que '*Solution Essai du Stock de Protonamide*'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides clairs ou troubles.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

A l'aide d'une pipette graduée, introduire 1 ml de solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 3 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que '*Solution Essai d'Usage de Protionamide*'.

La concentration escomptée de protionamide dans cette solution essai d'usage est de 2,5 mg par ml et doit égaler la concentration de protionamide 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 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. 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 de comprimés ou de gélules 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 18 ml d'acétate d'éthyle et 2 ml de méthanol 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. 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-quart de la plaque environ; la durée du développement est de 10 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le solvant au moyen d'un trait fin, puis sécher la plaque à l'air libre ou à l'aide d'une plaque chauffante au besoin.

X. REVELATION DES TACHES

Sécher tous les résidus de solvant et observer la chromatoplaque par irradiation à la lumière UV de 254 nm en utilisant la lampe à piles fournie. Utiliser cette méthode de révélation à des fins d'identification et de quantification. Une vérification supplémentaire de l'identité et de la teneur en substance active peut être réalisée par observation de la plaque à la lumière du jour après la coloration à l'iode.

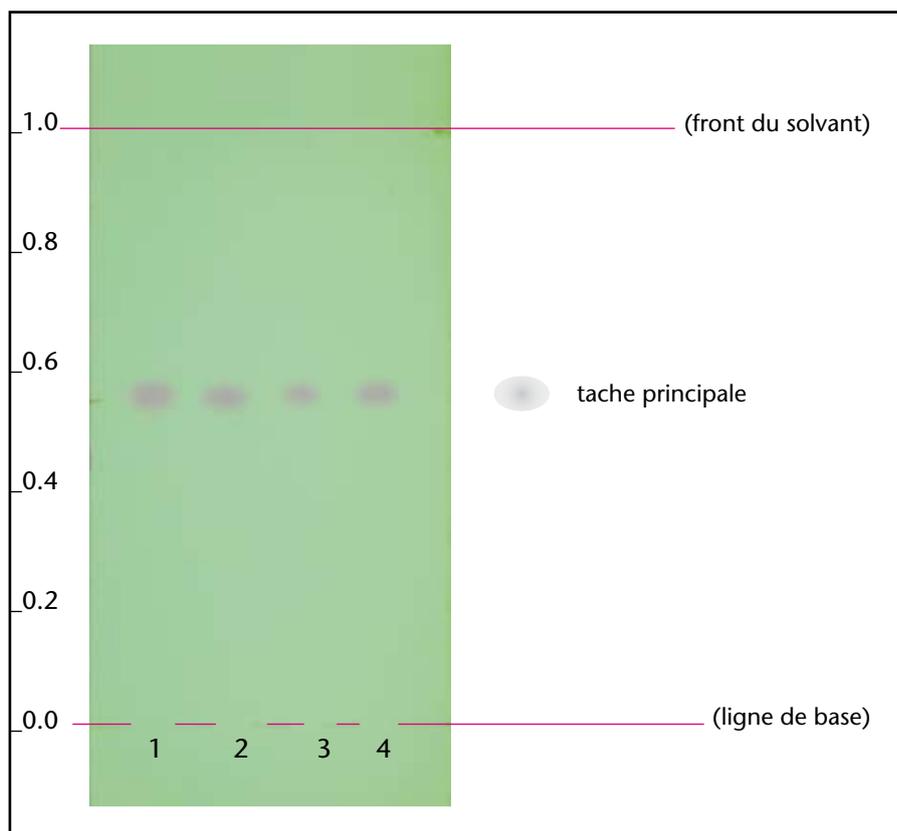
XI. CHROMATOPLAQUE OBSERVEE SOUS UNE LAMPE UV DE 254 NM

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

Développement n°2:
Un médicament de bonne qualité à
teneur suffisante en substance active

Développement n°3:
Un médicament de basse qualité à
teneur insuffisante en substance active

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



XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

La présence de protonamide dans la solution essai est indiquée par une tache gris-violet à une distance de déplacement de 0,52 environ. Des taches foncées supplémentaires générées par la solution de test indiquent la présence d'autres substances actives ou une détérioration de protonamide; ce dernier cas est plus probable lorsque les taches sont accompagnées d'une tache principale plus petite. Des agents auxiliaires inclus dans les différentes formules de comprimés ou gélules peuvent générer quelques taches à peine visibles apparaissant près de la ligne de base ou sur celle-ci.

XIII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'IODE

Quand on expose la plaque chromatographique à la vapeur d'iode, toutes les taches de protonamide déjà observées à 254 nm se colorent maintenant en brun-jaune. Continuer à observer la plaque quand l'iode commence à s'évaporer. Les taches révélant des qualités inférieures de médicament disparaissent d'abord, suivies progressivement des taches de référence représentant une teneur en substance active de 80 et 100 pour cent, respectivement.

XIV. RESULTATS & MESURES A PRENDRE

La tache de protonamide 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 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 résultat précis quant à la teneur en substance active. 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.

Authentique ou Contrefait?



Lutter contre les Médicaments Contrefaits · Protéger la Vie

Global Pharma Health Fund
Otto-Meißner-Straße 1
60314 Frankfurt, Allemagne
Tél.: 0049-69-962387-600
Fax: 0049-69-962387-609
info@gphf.org · www.gphf.org



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

**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.: 001-202-712-4789
Fax: 001-202-216-3702
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov



United States Pharmacopeia
Drug Quality and
Information Program
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790, USA
Tél.: 001-301-816-8162
Fax: 001-301-816-8374
uspdqi@usp.org · www.uspdqi.org

