

Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab®

Supplément 2011

Volume II

TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE



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



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

SUPPLÉMENT 2011 AU VOLUME II DES TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Rédigé par

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

* * *

Revu par

Adrian Barojas, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Kennedy Chibwe, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, 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 programme *Promoting the Quality of Medicines* de la United States Pharmacopeia (USP PQM)

* * *

Copyright © by GPHF & USP PQM

* * *

Remerciements

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

* * *

Le projet GPHF-Minilab®

La prolifération des médicaments contrefaits constitue un danger sérieux pour la santé. L'Organisation 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. Le combat des contrefaçons a pour but d'assurer que les investissements réalisés dans les programmes de santé pendant plusieurs décennies ne sont pas anéantis par manque de vigilance.

Afin de lutter contre les médicaments anti-infectieux contrefaits ou de qualité 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 douze 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 440 Minilabs ont déjà été fournis dans 70 pays à travers l'Afrique, la région Asie-Pacifique 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 programme *Promoting the Quality of Medicines* de la Pharmacopée Américaine 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 développer des tests supplémentaires 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 Graphic Design, Ochsenfurt, Germany

Table des Matières

Chapitre	Page
Nouvelles procédures individuelles de test chromatographique	4
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 6</i> <i>D'autres médicaments antipaludéens, antibactériens et antituberculeux</i>	
6.51 Artéméther (en formules combinées présentées en poudre pour les suspensions orales)	4
6.52 Azithromycine (y compris la poudre pour les suspensions orales)	8
6.53 Cyclosérine	12
6.54 Dihydroartémisinine (y compris les formules combinées de phosphate de pipéraquline)	16
6.55 Ethionamide	20
6.56 Luméfantrine (en formules combinées présentées en poudre pour les suspensions orales)	24
6.57 Pipéraquline (en tant que phosphate en formules combinées de dihydroartémisinine)	28
Tableau synoptique des procédures de test chromatographique	32
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 7</i>	
Liste actualisée des substances témoin du GPHF-Minilab®	33
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 10</i>	
Santé & Sécurité	35

6.54 Dihydroartémisinine (y compris les formules combinées de phosphate de pipéraquline)

Examen Primaire du Médicament via Inspection Physique & Test de Désintégration

I. INSPECTION PHYSIQUE

Chercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique, comme il est décrit dans les chapitres d'entrée concernant les méthodes et les procédés généraux du manuel principal. Inscrire toutes les caractéristiques de produit en utilisant le formulaire de rapport en tant que guide. Tout comprimé ou toute gélule contient généralement 20, 60 ou 80 mg de dihydroartémisinine. Récemment, les médicaments de formule à dosage unique pour monothérapie sont remplacés par des médicaments de formule combinée à dosage fixe composés de 40 mg de dihydroartémisinine et de 320 mg de tétraphosphate de pipéraquline.

II. TEST DE DESINTEGRATION

Tous les comprimés et gélules de dihydroartémisinine à dosage unique et à dosage fixe combinés 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 dihydroartémisinine 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. Pour une vérification de la phosphate de pipéraquline dans les médicaments à formule combinée à dosage fixe, veuillez vous reporter à la page 28 de ce manuel supplément.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- 1) Pilon
- 2) Feuille d'aluminium
- 3) Entonnoir
- 4) Bande adhésive
- 5) Stylo feutre
- 6) Crayon et règle
- 7) Flacons de verre de 10 ml
- 8) Kit de pipettes graduées (1 à 25 ml)
- 9) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 à 100 ml)
- 10) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F₂₅₄ taille 5x10 cm
- 11) Tubes capillaires de verre (2-µl de capacité)
- 12) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml)
- 13) Plaque chauffante
- 14) Papier filtre
- 15) Paire de ciseaux
- 16) Paire de pincettes
- 17) Lampe UV de 254 nm
- 18) Cuve d'immersion (bêcher de 250 ml)
- 19) Acide sulfurique concentré
- 20) Acétate d'éthyle
- 21) Méthanol
- 22) Ammonium hydroxyde concentrée
- 23) Substance témoin, des comprimés à formule combinée à dosage fixe contenant 40 mg de dihydroartémisinine et 320 mg de phosphate de pipéraquline, 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 contenant 40 mg de dihydroartémisinine combinée à 320 mg de phosphate de pipéraquline, par exemple. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre en utilisant un pilon. Verser avec précaution 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 20 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 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 mg de dihydroartémisinine totale par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Dihydroartémisinine'. 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)

La solution témoin du stock ne nécessite pas de dilution supplémentaire. Elle constitue déjà la concentration de travail finale de 2 mg de dihydroartémisinine totale par ml. Pour une manipulation plus aisée toutefois, une partie du liquide de surface peut être transféré dans une fiole de 10 ml.

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

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

A l'aide d'une pipette graduée, introduire 4 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 1,6 mg de dihydroartémisinine totale par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage de Dihydroartémisinine 80%'.

Cette solution témoin d'usage inférieure représente un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de dihydroartémisinine 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.

VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI
DU STOCK A PARTIR D'UN MEDICA-
MENT DECLARANT UNE TENEUR EN
DIHYDROARTEMISININE DE 20 MG A
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 taille appropriée. Le contenu d'une gélule doit être introduit directement dans le flacon, ainsi que les deux parties de l'enveloppe de gélule. Pour l'extraction, ajouter 10 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.

40 MG DE DIHYDROARTEMISININE A
L'UNITE

Prendre un comprimé entier ou une gélule et réaliser l'extraction de la poudre obtenue à l'aide de 20 ml de méthanol selon la procédure indiquée ci-dessus.

60 MG DE DIHYDROARTEMISININE A
L'UNITE

Prendre un comprimé entier ou une gélule et réaliser l'extraction de la poudre obtenue à l'aide de 30 ml de méthanol selon la procédure indiquée ci-dessus.

80 MG DE DIHYDROARTEMISININE A
L'UNITE

Prendre un comprimé entier ou une gélule et réaliser l'extraction de la poudre obtenue à l'aide de 40 ml de méthanol selon la procédure indiquée ci-dessus.

Toutes les solutions d'essai du stock produites doivent contenir finalement 2 mg de dihydroartémisinine totale par ml et être étiquetées en tant que 'Solution Essai du Stock de Dihydroartémisinine'. Ne préparer ces solutions que juste avant la réalisation de chaque test. Continuer à travailler avec les liquides clairs ou troubles.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Les solutions essai du stock ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elle constituent déjà la concentration de travail finale de 2 mg de dihydroartémisinine totale par ml. Si elle est préparée à partir d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration de dihydroartémisinine 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. Même si la dihydroartémisinine elle-même reste invisible, les excipients et autres composants de médicament apparaîtront, ce qui facilitera la vérification. Tous les dépôts doivent être ronds de forme et également répartis sur la ligne de base. Bien qu'ils puissent différer en intensité, ils ne doivent jamais différer en diamètre. Des intensités différentes sont dues aux quantités résiduelles d'excipients de comprimés ou de gélules ou à différentes concentrations de substance active 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.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 16 ml d'acétate d'éthyle, 4 ml de méthanol et 3 ml de solution d'ammoniaque concentrée dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger fermement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes de façon à assurer la saturation de la chambre par les vapeurs de solvant. Déposer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve et fermer. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant aux trois-quarts de la plaque environ; la durée du développement est de 15 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le solvant au moyen d'un trait fin, puis faire évaporer le surplus de solvant à l'aide d'une plaque chauffante au besoin.

X. REVELATION DES TACHES

Quand on travaille sur ce type de médicaments de combinaisons à dose fixe, il est préférable de vérifier la présence de phosphate de pipéraquline avant celle de dihydroartémisinine. A cet effet, exposer d'abord la chromatoplaque séchée à la lumière UV de 254 nm en utilisant la lampe à piles fournie.

Après le contrôle de la présence ou absence de pipéraquline, la chromatoplaque peut être exposée à la coloration à l'acide sulfurique pour la révélation de dihydroartémisinine. A cet effet, remplir le béccher de plastique de 250 ml fourni de 190 ml de méthanol, puis de 10 ml de solution d'acide sulfurique concentrée et mélanger doucement. Laisser refroidir le mélange et immerger la chromatoplaque à l'envers dans la solution de coloration en utilisant une paire de pincettes. Retirer alors immédiatement la plaque et faire écouler l'excès de solution sur un papier tissu. Essuyer le résidu liquide au dos de la plaque et continuer à sécher la toute la solution decoloration sur la plaque chauffante fournie. Pendant le réchauffement, toutes les taches de dihydroartémisinine apparaissent progressivement à la lumière du jour. Utiliser cette méthode de révélation à des fins d'identification et de quantification de la dihydroartémisinine.

Après la coloration à l'acide sulfurique et à la chaleur, une révélation supplémentaire de dihydroartémisinine et de pipéraquline est possible quand on expose la chromatoplaque colorée aux rayons UV de 366 nm dans une pièce de travail sombre.

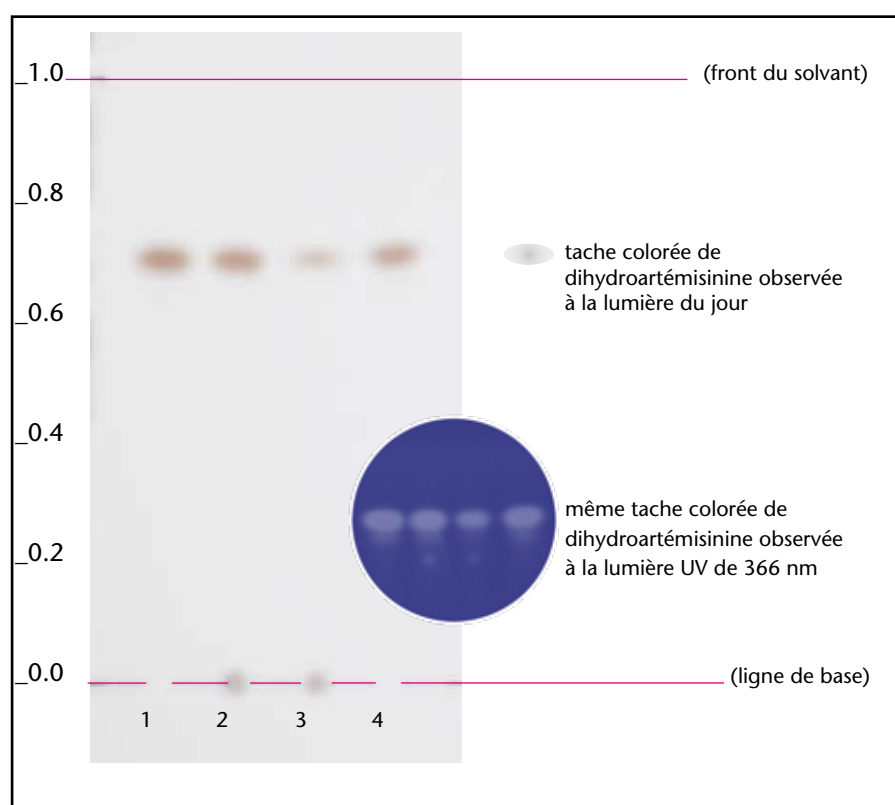
XI. CHROMATOPLAQUE OBSERVEE A LA LUMIERE DU JOUR ET SOUS UNE LAMPE UV DE 366 NM APRES COLORATION A L'ACIDE SULFURIQUE

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

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 dihydroartémisinine totale



XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM AVANT COLORATION

La dihydroartémisinine reste invisible et aucune autre tache ne doit être révélée à moins que l'échantillon analysé ne se présente sous forme de médicament en formule combinée à dosage fixe contenant aussi de la phosphate de pipéraquline. En cas de formules combinées, une tache représentant de la pipéraquline apparaîtra à une distance de déplacement de 0,54 env. Les taches pâles observées ici sont dues à la faible solubilité de la phosphate de pipéraquline dans le méthanol utilisé dans l'extraction d'échantillons. D'autres taches générées par la solution de test indiqueront la présence d'autres médicaments.

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

Une tache marron à une distance de déplacement de 0,69 environ indique la présence de dihydroartémisinine dans la solution essai. Aucune autre tache ne doit être visible même si la dihydroartémisinine est combinée à la phosphate de pipéraquline. Des taches foncées supplémentaires générées par la solution essai indiqueront la présence d'autres médicaments ou une détérioration de dihydroartémisinine; ce dernier cas est plus probable si celles-ci sont accompagnées d'une tache principale plus petite. Les agents auxiliaires intégrés aux différentes formules de comprimés et gélules peuvent créer la formation de quelques taches pâles se déplaçant sur le front de solvant ou apparaissant près la ligne de base ou sur celle-ci.

XIV. OBSERVATIONS AUX RAYONS UV DE 366 NM APRES COLORATION A L'ACIDE SULFURIQUE

Les deux taches, celle de dihydroartémisinine et celle de pipéraquline observées précédemment et progressivement à l'aide de différentes méthodes de révélation apparaissent maintenant simultanément. La tache de dihydroartémisinine présente une fluorescence blanc cassé et celle de pipéraquline une fluorescence bleu clair.

XV. RESULTATS & MESURES A PRENDRE

La tache de dihydroartémisinine du chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, taille, intensité, forme et 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. Pour un deuxième jugement, transmettre des échantillons supplémentaires à un laboratoire de contrôle de médicaments entièrement équipé. Garder des échantillons et placer le lot en quarantaine jusqu'à la prise d'une décision définitive de rejet ou de mise en circulation des médicaments. A des fins de documentation, prendre des photos des différentes lectures avec un appareil-photo numérique; éteindre d'abord le flash.

Véritable ou contrefait?



Lutter contre les médicaments contrefaits · Protéger la vie



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

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



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

**U.S. Agency for
International Development**
Office of Health, Infectious Diseases
and Nutrition, Ronald Reagan Bldg.,
1300 Pennsylvania Avenue NW
Washington, DC 20523-3700, USA
Tél.: 001-202-712-4789
Fax: 001-202-216-3702
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov

United States Pharmacopeia
Promoting the Quality
of Medicines program
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790, USA
Tél.: 001-301-816-8162
Fax: 001-301-816-8374
pqm@usp.org · www.pqmusp.org