

Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab™

Supplément 2023 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
7.108 Apixaban.....	4
7.109 Candésartan cilexétel associé ou non à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine.....	8
7.110 Clopidogrel en tant que sulfate/besylate/chlorhydrate avec ou non d'AAS y compris la ticlopidine apparentée.....	12
7.111 Hydralazine en tant que chlorhydrate en formulation orale et parentérale.....	16
7.112 Rivaroxaban	20
7.113 Warfarine/Coumaphène sodique y compris la phénprocoumone apparentée.....	24

Santé et sécurité

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 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.

7.108 Apixaban

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, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Chaque comprimé contient généralement 2,5 ou 5 mg d'apixaban. 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'apixaban à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal. 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

L'apixaban est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu de solution d'acide acétique concentré, puis son identité et sa teneur sont vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un agent de référence approprié.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|--|
| 1) Pilon | 15) Papier filtre |
| 2) Feuille d'aluminium | 16) Pair de ciseaux |
| 3) Entonnoir | 17) Pair de pincettes |
| 4) Spatule | 18) Lampe UV 254 nm |
| 5) Bande adhésive | 19) Méthanol |
| 6) Stylo feutre | 20) Acétate d'éthyle |
| 7) Crayon et règle graduée | 21) Solution d'acide acétique 96% |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 22) Substance témoin, par exemple, des comprimés d'apixaban à 5 mg |
| 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 ₂₅₄ , 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 | |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un agent de référence, par exemple, des comprimés contenant 5 mg d'apixaban. 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 solution d'acide acétique 96% en utilisant une pipette graduée. Fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes. Filtrer la suspension obtenue à travers le papier filtre fourni et recueillir le filtrat dans un flacon de

10 ml. Il faut environ 5 minutes pour recueillir environ 6 ml d'un filtrat trouble. La solution trouble obtenue doit contenir 0,5 mg d'apixaban total par ml et être étiquetée comme 'Solution Témoin du Stock d'Apixaban'. Préparer fraîchement cette solution pour chaque test. Continuer à travailler avec le liquide trouble obtenu.

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

La solution témoin du stock ne nécessite aucune dilution supplémentaire. Elle représente déjà la concentration finale de travail de 0,5 mg d'apixaban total par ml.

Cette solution témoin constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% d'apixaban.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 4 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de solution d'acide acétique 96%. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,4 mg d'apixaban total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Travail d'Apixaban 80%'.

Cette solution témoin constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité d'apixaban indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en apixaban 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 APIXABAN DE 2,5 MG PAR UNITE

Prendre deux gélules ou comprimés complets à partir d'un produit pharmaceutique approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, les comprimés sont enveloppés 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 des gélules doit être introduite directement dans un flacon ajoutant aussi les quatre parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 10 ml de solution d'acide acétique 96% en utilisant de pipette graduée appropriée. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ. Si la poudre forme une sorte de suspension stable, alors filtrer le liquide à travers le papier filtre fourni et recueillir le filtrat dans un flacon de 10 ml. Après environ 5 minutes, on recueille environ 6 ml d'une solution du stock trouble. Cette solution est loin d'être parfaite mais peut déjà être utilisée pour l'application de l'échantillon. Si la poudre ne forme qu'une solution légèrement trouble ou même claire, alors ne filtrer pas et laisser simplement la solution reposer pendant cinq minutes supplémentaires jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.

Remarque: Si aucune filtration n'est nécessaire, un comprimé ou une gélule d'échantillon sera suffisante pour produire la solution du stock en utilisant seulement 5 ml de solution d'acide acétique à 96% pour l'extraction.

5 MG D'APIXABAN 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 solution d'acide acétique à 96% à l'aide de pipette graduée appropriée et extraire l'apixaban. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus. Une filtration peut être nécessaire.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 0,5 mg d'apixaban total par ml et être étiquetées comme 'Solution Essai du Stock d'Apixaban'. 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

Les solutions essai du stock d'apixaban ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elles constituent déjà la concentration de travail de 0,5 mg d'apixaban par ml. Quand elle est préparée sur la base d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration d'apixaban de la solution témoin du travail 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 ou aux différentes concentrations de médicaments 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 directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ une minute. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 15 ml d'acétate d'éthyle, 5 ml de méthanol 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 15 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 doucement tous les résidus de solvant. Pour ce faire, tenir la plaque chromatographique avec la paire de pincettes dans le flux d'air chaud directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ deux minutes. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

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'apixaban.

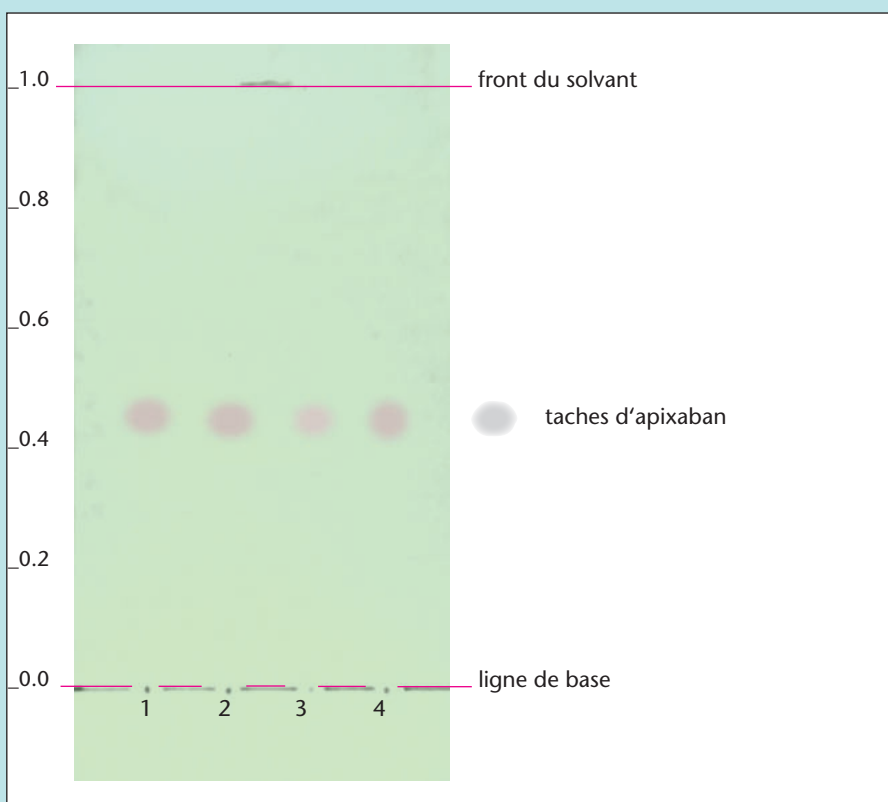
CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

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

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

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

Développement n° 4:
Solution témoin inférieure représentant
80% d'apixaban total



XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,45 indique la présence d'apixaban dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation de l'apixaban, 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 apixaban et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale d'apixaban. Des agents actifs apparentés, par exemple le rivaroxaban, présenteraient un facteur de rétention d'environ 0,53. 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. Le lactose reste invisible mais des tests supplémentaires de coloration à l'acide sulfurique et à la chaleur indiquent qu'il apparaîtrait à environ 0,10 s'il était présent dans la formulation.

XII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache d'apixaban 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.

7.109 Candésartan cilexétil associé 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, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Chaque comprimé ou gélules contient généralement 4, 8, 16 ou 32 mg d'ester de candésartan cilexétil. Les comprimés ou capsules peuvent être

associés à 12,5 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 candésartan à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal. 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'ester de candésartan cilexétil est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu d'acétone, puis son identité et son contenu sont vérifiés par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un agent de référence approprié. Pour les associations à doses fixes, se référer au protocole relatif à l'hydrochlorothiazide ou à l'amlodipine dans le manuel principal pour des tests supplémentaires.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

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

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 8 mg d'ester de candésartan cilexétil. 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 10 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 4 ml d'acétone 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 2 mg de candésartan cilexétil total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Candésartan'. 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)**

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 3 ml d'acétone. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,5 mg de candésartan cilexétil total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Travail de Candésartan 100%'.

Cette solution témoin constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% d'ester de candésartan cilexétil.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 4 ml d'acétone. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,4 mg de candésartan cilexétil total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Travail de Candésartan 80%'.

Cette solution témoin constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité d'ester de candésartan cilexétil 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 CANDESARTAN CILEXETIL DE
4 MG 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 10 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 2 ml d'acétone en utilisant 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.

**8 MG DE CANDESARTAN CILEXETIL
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 10 ml, ajouter 4 ml d'acétone avec une pipette graduée appropriée et extraire l'ester de candésartan cilexétil. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

**16 MG DE CANDESARTAN CILEXETIL
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 10 ml, ajouter 8 ml d'acétone avec une pipette graduée appropriée et extraire l'ester de candésartan cilexétil. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

**32 MG DE CANDESARTAN CILEXETIL
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 d'acétone avec une pipette graduée appropriée et extraire l'ester de candésartan cilexétil. 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 mg d'ester de candésartan cilexétil total par ml et être étiquetées comme 'Solution Essai du Stock de Candésartan'. 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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 3 ml d'acétone. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que 'Solution Essai du Travail de Candésartan'.

La concentration prévue d'ester de candésartan cilexétel dans la solution essai d'usage est de 0,5 mg par ml et doit correspondre à la concentration de candésartan cilexétel de la solution témoin du travail 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.

Laisser les taches sécher à l'air pendant environ trois minutes jusqu'à ce que l'odeur d'acétone ait presque complètement disparu. Éviter tout séchage à la chaleur.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 18 ml d'acétate d'éthyle, 2 ml de méthanol et 0,1 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 10 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. Pour ce faire, laisser les taches sécher à l'air pendant environ cinq minutes. Éviter tout séchage à la chaleur.

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 candésartan cilexétel. En cas d'association avec l'hydrochlorothiazide (HCT), la tache de cet agent apparaîtra au-dessus de la tache de candésartan cilexétel. S'il est associé à l'amlodipine, une tache supplémentaire peut être détectée très près de la ligne de base, voire sur celle-ci. Lorsque cette dernière tache est irradiée par une lumière UV à 366 nm, une forte fluorescence blanche apparaît. Pour vérifier la teneur en HCT ou en amlodipine, se référer aux protocoles de test correspondants dans le manuel principal.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une forte tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,42 indique la présence de candésartan cilexétel dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation du candésartan cilexétel, ce dernier cas étant plus probable lorsqu'il est associé à une tache principale plus

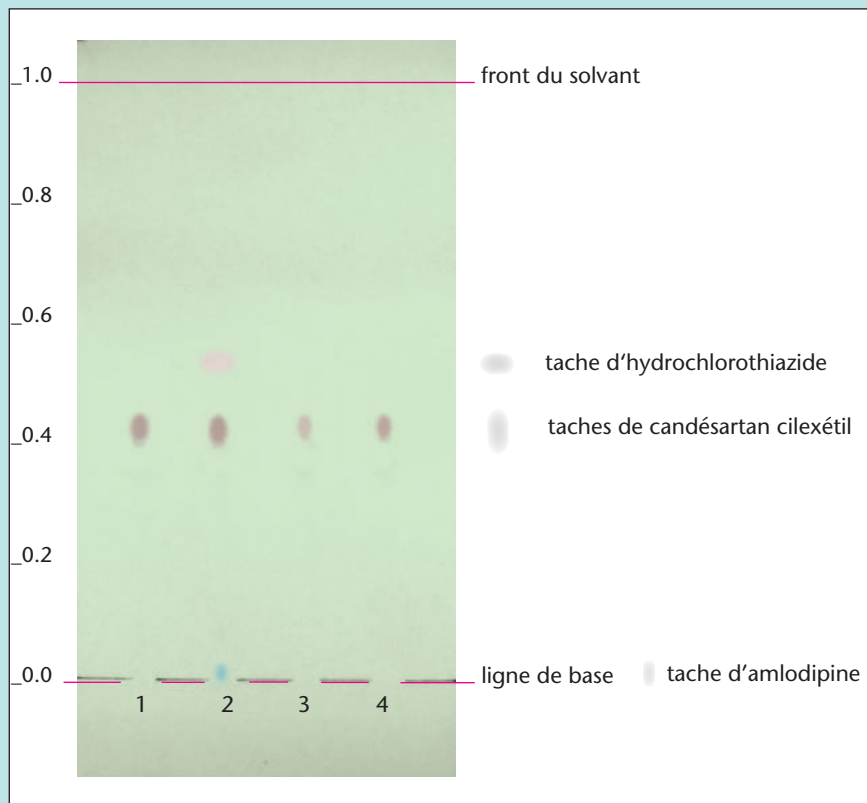
CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

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

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

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

Développement. n° 4:
Solution témoin inférieure représentant
80% de candésartan cilexétel total



petite. Une tache principale plus petite de la solution essai peut également indiquer une faible teneur en candésartan cilexétel et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale du candésartan. Si le candésartan cilexétel est associé à l'hydrochlorothiazide (HCT), un deuxième spot peut être observé à une distance de déplacement d'environ 0,54 au-dessus de la tache pour le candésartan. Si le candésartan cilexétel est associé à l'amlopidine, un point supplémentaire est visible à une distance de déplacement d'environ 0,02 près de la ligne de base. 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.

XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM

Lorsque l'ester de candésartan cilexétel est combiné à l'amlopidine, la présence de ce dernier composé est confirmée par une forte fluorescence blanche à une distance de déplacement d'environ 0,02 très proche de la ligne de base.

XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de candésartan cilexétel 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.

7.110 Clopidogrel en tant que sulfate/besylate/chlorhydrate avec ou non d'AAS

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, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Que le clopidogrel se présente sous forme de sulfate, de besylate ou de chlorhydrate, chaque comprimé contient généralement 75 mg de clopidogrel par base

libre. D'autres dosages et des associations à dose fixe avec l'acide acétylsalicylique (AAS) sont connus. 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 clopidogrel à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal. 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

Clopidogrel en tant que sulfate/besylate/hydrochloride est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu de méthanol, puis son identité et son contenu sont vérifiés par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un agent de référence approprié. Pour les combinaisons fixes avec l'AAS, se référer au protocole de l'acide acétylsalicylique dans le manuel principal pour des tests supplémentaires. Par ailleurs, la même phase mobile est utilisée pour le protocole de test du clopidogrel et de l'acide acétylsalicylique.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|---|--|
| 1) Pilon | 14) Plaque chauffante |
| 2) Feuille d'aluminium | 15) Papier filtre |
| 3) Entonnoir | 16) Pair de ciseaux |
| 4) Spatule | 17) Pair de pincettes |
| 5) Bande adhésive | 18) Lampe UV 254 nm |
| 6) Stylo feutre | 19) Lampe UV 366 nm |
| 7) Crayon et règle graduée | 20) Cuve de révélation à l'iode |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 21) Méthanol |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml) | 22) Butanol-n |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml) | 23) Acétate d'éthyle |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F _{254r} taille 5 x 10 cm | 24) Solution d'acide acétique 96% |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité | 25) Solution d'acide sulfurique 96% |
| 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml) | 26) Eau distillée/du robinet/embouteillée |
| | 27) Substance témoin, par exemple, des comprimés contenant 75 mg de clopidogrel sous la forme de son sel sulfate |

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 75 mg de clopidogrel sous la forme de son sel sulfate. 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 15 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 clopidogrel total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Clopidogrel'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide surnageant clair ou même trouble.

<p>IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMIT SUPERIEURE)</p>	<p>La solution témoin du stock ne nécessite aucune dilution supplémentaire. Elle représente déjà la concentration finale de travail de 5 mg de clopidogrel total par ml. Pour une manipulation plus pratique, une partie du liquide surnageant peut être transférée dans un nouveau flacon de 10 ml.</p>
<p>V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMIT INFERIEURE)</p>	<p>A l'aide des pipettes graduées, introduire 4 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 4 mg de clopidogrel total par ml et être étiquetée en tant que '<i>Solution Témoin du Travail de Clopidogrel 80%</i>'.</p>
<p>VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK D'UN MEDICAMENT DECLARANT UNE TENEUR EN CLOPIDOGREL DE 75 MG PAR UNITE</p>	<p>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 15 ml de méthanol utilisant 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.</p>
<p>300 MG DE CLOPIDOGREL PAR UNITE</p>	<p>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 60 ml de méthanol utilisant une pipette graduée appropriée et extraire le clopidogrel. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.</p> <p>Qu'elles soient ou non associées à l'AAS, toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 5 mg de clopidogrel total par ml et être étiquetées comme '<i>Solution Essai du Stock de Clopidogrel</i>'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.</p>
<p>VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE</p>	<p>Les solutions essai du stock ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elles constituent déjà la concentration de travail de 5 mg de clopidogrel par ml. Quand elle est préparée sur la base d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration de clopidogrel de la solution témoin du travail supérieure produite ci-dessus. Pour faciliter la manipulation, une partie du liquide surnageant peut être transférée dans un flacon de 10 ml.</p>
<p>VIII. DEPOT D'ECHANTILLON</p>	<p>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 indiqué sur l'image de la page 15, en utilisant les tubes capillaires fournis.</p> <p>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.</p> <p>Laisser les taches sécher à l'air pendant environ deux à trois minutes jusqu'à ce que le méthanol ait presque complètement disparu.</p>

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A) Phase mobile pour la vérification du contenu en clopidogrel: À l'aide des pipettes graduées appropriées, ajouter 18 ml d'acétate d'éthyle, 4 ml de méthanol et 0,1 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 10 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 doucement tous les résidus de solvant. Pour ce faire, tenir la plaque chromatographique avec la paire de pincettes dans le flux d'air chaud directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ deux minutes. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

B) Phase mobile permettant de distinguer le clopidogrel de la ticlopidine, étroitement apparentée: Pipeter 12 ml de n-butanol, 3 ml de solution d'acide acétique à 96% et 6 ml d'eau dans la chambre de développement CCM dans l'ordre indiqué. Placer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve chromatographique saturée de vapeur de solvant. Fermer la cuve et développer la chromatoplate jusqu'à ce que le front de solvant se soit déplacé d'environ la moitié de la longueur de la plaque, le temps de développement étant d'environ 30 minutes. Retirer la plaque CCM de la chambre, marquer le front de solvant et laisser l'excès de solvant s'évaporer par séchage doux dans le flux d'air chaud au-dessus de la plaque chauffante pendant environ trois minutes, comme déjà indiqué ci-dessus pour la phase mobile «A».

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. Pour une identification et une quantification supplémentaires du clopidogrel, colorer la chromatoplate avec des vapeurs d'iode.

Pour mieux distinguer le clopidogrel de la ticlopidine qui lui est étroitement apparentée, traiter la plaque d'iode avec de l'acide sulfurique et de la chaleur. Pour ce faire, remplir le bécher en plastique de 250 ml fourni avec 190 ml de méthanol, puis 10 ml de solution d'acide sulfurique à 96%, et mélanger soigneusement. Laisser refroidir le mélange et immerger la plaque de chromatographie dans la solution de coloration avec la face supérieure vers le bas si elle provient de la phase mobile «A» et avec la face inférieure en premier si elle provient de la phase mobile «B». Retirer immédiatement la plaque de la solution et laisser s'écouler l'excédent de liquide sur le papier tissu. Essuyer le liquide restant au dos de la plaque et sécher l'ensemble de la solution de coloration pendant environ 30 à 60 secondes à la chaleur maximale de la plaque chauffante fournie. Après avoir retiré la plaque chromatographique de la plaque chauffante, observer la plaque colorée sous une lumière UV à 366 nm dans l'obscurité. Les taches représentant le clopidogrel présentent une fluorescence blanche. La ticlopidine, étroitement apparentée, ne présente pas cette fluorescence.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Phase mobile A: Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,73 indique la présence de clopidogrel dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation du clopidogrel, 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 clopidogrel et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de clopidogrel. S'il est combiné à l'acide acétylsalicylique (AAS), ce composé est visible à une distance de déplacement d'environ 0,47. En outre, l'acide benzènesulfonique provenant du sel de bésylate de clopidogrel peut devenir visible à une distance de déplacement d'environ 0,20. 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.

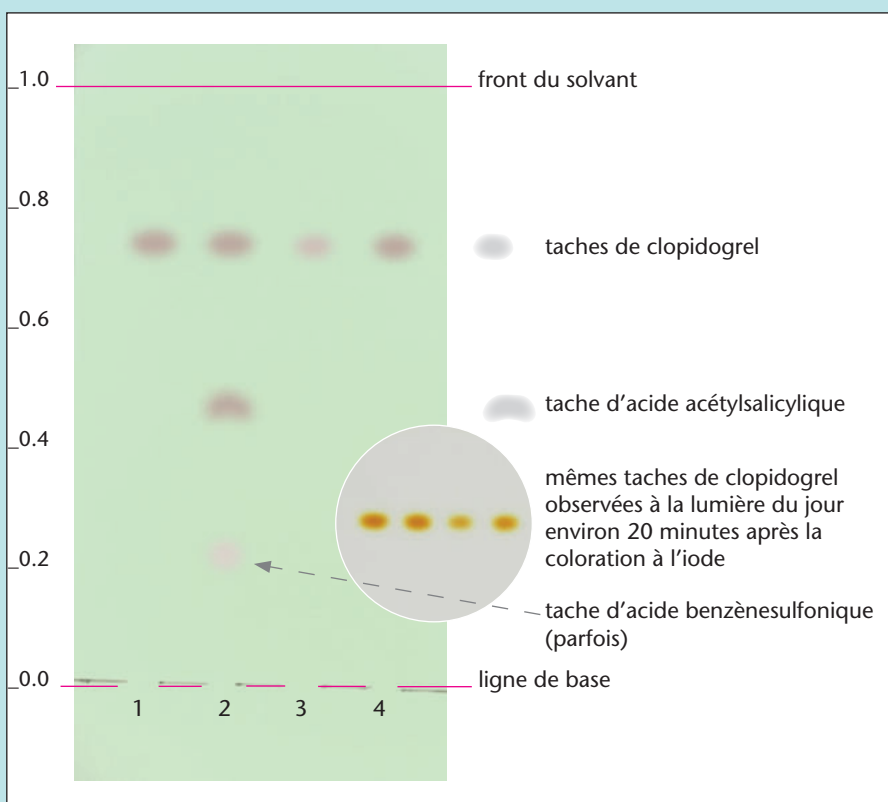
CHROMATOGRAMME DE LA PHASE MOBILE «A» OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Développement n° 1:
Solution témoin supérieure représentant 100% du clopidogrel total

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

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

Développement n° 4:
Solution témoin inférieure représentant 80% du clopidogrel total



Phase mobile B: Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,90 indique la présence de clopidogrel dans la solution d'essai. La ticlopidine, étroitement apparentée et appartenant à la même famille de thiénopyridines, présenterait un facteur de rétention d'environ 0,63. Le rapport frontal de l'AAS est d'environ 0,80 et celui de l'acide benzenesulfonique d'environ 0,52.

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

Lorsque la plaque CCM est exposée à la vapeur d'iode, toutes les taches de clopidogrel précédemment observées à 254 nm deviennent brun jaunâtre. La coloration est très forte, ce qui rend difficile les lectures semi-quantitatives. Après une période d'attente d'environ 20 minutes, lorsque l'iode s'évapore et que la coloration mûrit, les différentes teintes et tailles indiquent grossièrement les différentes concentrations de clopidogrel. La ticlopidine se comporte ici de manière très similaire.

XIII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM APRES COLORATION DE LA PLAQUE D'IODE AVEC DE L'ACIDE SULFURIQUE

Lorsque la plaque CCM colorée à l'iode est en outre exposée à l'acide sulfurique et à la chaleur, toutes les taches de clopidogrel présentent une fluorescence blanche dans l'obscurité. La ticlopidine, étroitement apparentée, ne présente pas cette fluorescence. La fluorescence est la plus forte en présence d'iode après la coloration à l'iode et n'apparaît qu'à température ambiante après avoir retiré la plaque CCM de la plaque chauffante.

XIV. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de clopidogrel 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.

7.111 Hydralazine en tant que chlorhydrate en formulation orale et parentérale

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, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Les formes posologiques liquides pour usage parentéral contiennent 20 mg de sel de chlorhydrate d'hydralazine par unité. Les solutions parentérales doivent être claires et exemptes de corps étrangers.

En revanche, les comprimés contiennent habituellement 25, 50 ou 100 mg de sel de chlorhydrate d'hydralazine. D'autres dosages sont connus. 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 clopidogrel à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal. 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

Les solutions de chlorhydrate d'hydralazine sont diluées et les formes de dosage solides extraites avec un volume connu d'eau, puis son identité et son contenu sont vérifiés par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un agent de référence approprié.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|---|--|
| 1) Pilon | 14) Plaque chauffante |
| 2) Feuille d'aluminium | 15) Papier filtre |
| 3) Entonnoir | 16) Pair de ciseaux |
| 4) Spatule | 17) Pair de pincettes |
| 5) Bande adhésive | 18) Lampe UV 254 nm |
| 6) Stylo feutre | 19) Méthanol |
| 7) Crayon et règle graduée | 20) Acétone |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 21) Solution d'ammoniaque 25% |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml) | 22) Solution d'acide acétique 96% |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml) | 23) Eau distillée/du robinet/embouteillée |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F _{254r} taille 5 x 10 cm | 24) Balance de poche électronique |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité | 25) Substance témoin, par exemple, chlorhydrate d'hydralazine sous forme de comprimé de 25 mg ou, en variante, chlorhydrate d'hydralazine sous forme de substance pure provenant de sources commerciales |
| 13) Cuve chromatographique (réceptif de 500 ml) | |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Si des comprimés de référence contenant 25 mg de chlorhydrate d'hydralazine sont fournis, envelopper un comprimé dans une feuille d'aluminium et réduire-le en une poudre fine à l'aide d'un pilon. Vider soigneusement la feuille d'aluminium sur un flacon de verre de laboratoire de 25 ml et rincer tous les solides résiduels avec 5 ml d'eau à l'aide d'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 chlorhydrate d'hydralazine total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock d'Hydralazine'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide surnageant clair ou même trouble.

Si les comprimés de référence sont remplacés par de la poudre de chlorhydrate d'hydrala-

zinc d'une grande pureté proche de 100%, peser correctement environ 0,3 g à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Ensuite, dissoudre la poudre dans 60 ml d'eau pour obtenir à nouveau une solution contenant 5 mg de chlorhydrate d'hydralazine total par ml d'eau. Adapter la quantité d'eau lorsque le résultat de pesée diffère du poids cible. Pour surmonter l'inertie dynamique de la balance et afin d'assurer des lectures correctes, retirer la feuille d'aluminium ou tapoter légèrement le plateau de pesée avec un stylo ou une spatule à chaque fois après avoir ajouté ou soustrait quelques milligrammes supplémentaires. Afin d'assurer une dissolution complète, respecter les temps d'agitation et de repos mentionnés ci-dessus. Étiqueter comme ci-dessus. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. La solution finale obtenue doit être claire, sans aucune matière solide résiduelle observable.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de 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 1,25 mg de chlorhydrate de d'hydralazine total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin du Travail d'Hydralazine 100%*'.

Cette solution témoin constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de chlorhydrate d'hydralazine.

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

A l'aide des pipettes graduées, 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 1 mg de chlorhydrate d'hydralazine total par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin du Travail d'Hydralazine 80%*'.

Cette solution témoin constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de chlorhydrate d'hydralazine indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de chlorhydrate d'hydralazine 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 HYDRALAZINE HCL DE 20 MG
PAR FIOLE**

Prendre une ampoule ou fiole scellé de 1 ml d'un médicament approprié prélevé sur le terrain. Ouvrir la fiole ou l'ampoule et transférer le contenu dans un flacon de verre de laboratoire de 10 ml. Laver l'ampoule ou le flacon vide avec 3 ml d'eau et combiner chaque solution de lavage avec la solution d'échantillon.

**PRODUIT LYOPHILISÉ DECLARANT
UNE TENEUR EN HYDRALAZINE HCL
DE 20 MG PAR FIOLE**

Prendre une ampoule ou fiole d'un médicament approprié collecté sur le terrain. Ouvrir et transférer son contenu dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml utilisé comme récipient d'échantillon. Pour ce faire, enlever le haut des ampoules en verre, envelopper le corps de l'ampoule dans du papier d'aluminium et le briser avec un pilon avant de transférer tous les fragments de verre et le lyophilisat complètement dans le flacon de laboratoire de 25 ml. Puis extraire le tout avec 4 ml d'eau. Pendant l'extraction, l'étiquette avec son adhésif peut aussi se détacher progressivement, de sorte que toute la solution peut devenir trouble. Cela n'a cependant aucune influence sur l'extraction de l'hydralazine.

**COMPRIMÉ DECLARANT UNE
TENEUR EN HYDRALAZINE HCL DE
25 MG PAR UNITE**

Prélever un échantillon entier de comprimé ou de gélule et extraire la poudre obtenue avec 5 ml d'eau en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 10 ml comme récipient d'échantillon.

**COMPRIMÉ DECLARANT UNE
TENEUR EN HYDRALAZINE HCL DE
50 MG PAR UNITE**

Prélever un échantillon entier de comprimé ou de gélule et extraire la poudre obtenue avec 10 ml d'eau en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 25 ml comme récipient d'échantillon.

**COMPRIMÉ DECLARANT UNE
TENEUR EN HYDRALAZINE HCL DE
100 MG PAR UNITE**

Prélever un échantillon entier de comprimé ou de gélule et extraire la poudre obtenue avec 20 ml d'eau en utilisant une pipette graduée et un flacon de verre de laboratoire de 25 ml comme récipient d'échantillon.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 5 mg de chlorhydrate

d'hydralazine total par ml et être étiquetées comme 'Solution Essai du Stock d'Hydralazine'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide trouble obtenu.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la 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 du Travail d'Hydralazine'.

La concentration prévue de chlorhydrate d'hydralazine dans la solution essai d'usage est de 1,25 mg par ml et doit correspondre à la concentration de chlorhydrate d'hydralazine de la solution témoin du travail 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 ou aux différentes concentrations de médicaments 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 directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ 30 secondes. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 10 ml de méthanol, 5 ml d'acétone et 5 ml de solution d'ammoniaque à 25% 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 20 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le front du solvant au moyen d'un trait fin et laisser sécher l'excès de solvant à l'air pendant environ cinq minutes.

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'hydralazine.

Pour une détection plus poussée de l'hydralazine, effectuer une coloration à la ninhydrine. Pour cela peser 3 g de ninhydrine (environ 10 fois une spatule bien remplie) et les dissoudre dans un mélange de 150 ml de méthanol et de 30 ml de solution d'acide acétique 96% à l'aide du bécher de 250 ml fourni. Cela permettra de plonger la chromatoplate dans la solution à l'aide d'une paire de pinces. Retirer instantanément la plaque du bécher, laisser couler l'excédent de solution sur du papier absorbant et enfin sécher le dos de la plaque en utilisant à nouveau du papier absorbant. Continuer à sécher toute la solution de coloration sur une plaque chaude et observer comment les taches d'hydralazine deviennent progressivement visibles.

Le processus de coloration à la ninhydrine est illustré à la page 36 du manuel principal. Noter que la peau contaminée avec une solution de ninhydrine sera également tachée. Toutefois, cela n'est pas dangereux pour la santé et les taches violettes disparaîtront au bout d'un jour ou deux.

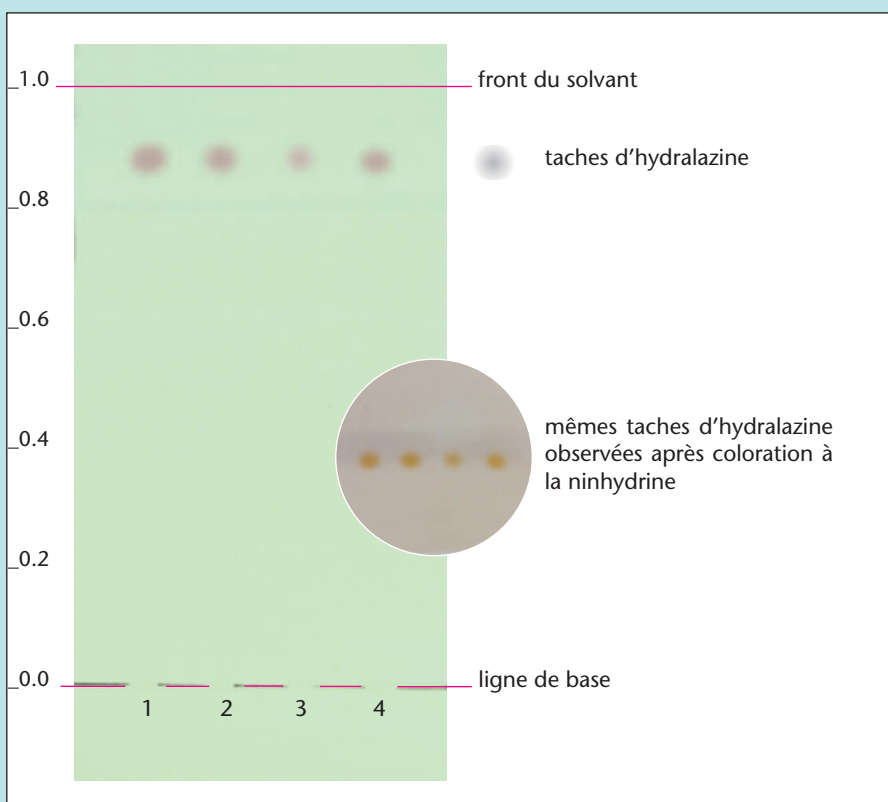
CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Développement n°1:
Solution témoin supérieure représentant
100% de l'hydralazine totale

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

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

Développement n°4:
Solution témoin inférieure représentant
80% de l'hydralazine totale



XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,88 indique la présence d'hydralazine dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation de l'hydralazine, 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 hydralazine et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale d'hydralazine. 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.

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

Toutes les taches d'hydralazine qui étaient auparavant rendues visibles par la lumière UV à 254 nm deviennent maintenant rouge-brun et pâlissent ensuite en orange-brun. Si la chromatoplate contient encore des résidus de solution ammoniacale provenant de la phase mobile, la plaque entière pourrait être colorée à la fin de la journée. Par conséquent, les semi-quantifications ne sont pas toujours concluantes, mais la coloration à la ninhydrine est bonne pour une identification plus poussée de l'hydralazine.

XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache d'hydralazine 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.

7.112 Rivaroxaban

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, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Chaque comprimé contient généralement 2,5, 10, 15 ou 20 mg de rivaroxaban. 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 rivaroxaban à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal. 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

Le rivaroxaban est extrait des comprimés ou des gélules avec un volume connu de solution d'acide acétique concentré, puis son identité et sa teneur sont vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un agent de référence approprié.

II. EQUIPMENT AND REAGENTS

- | | |
|--|---|
| 1) Pilon | 16) Pair de ciseaux |
| 2) Feuille d'aluminium | 17) Pair de pincettes |
| 3) Entonnoir | 18) Lampe UV 254 nm |
| 4) Spatule | 19) Méthanol |
| 5) Bande adhésive | 20) Acétate d'éthyle |
| 6) Stylo feutre | 21) Solution d'acide acétique 96% |
| 7) Crayon et règle graduée | 22) Substance témoin, par exemple, des comprimés de rivaroxaban à 10 mg |
| 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 ₂₅₄ , taille 5 x 10 cm | |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité | |
| 13) Cuve chromatographique (réceptacle de 500 ml) | |
| 14) Plaque chauffante | |
| 15) Papier filtre | |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un agent de référence, par exemple, des comprimés contenant 10 mg de rivaroxaban. 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 solution d'acide acétique 96% 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 trouble obtenue doit contenir 1 mg de rivaroxaban total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock de Rivaroxaban'. Préparer fraîchement cette solution pour chaque test. Continuer à travailler avec le liquide trouble obtenu.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de solution d'acide acétique 96%. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,5 mg de rivaroxaban total par ml et être étiquetée comme 'Solution Témoin du Travail de Rivaroxaban 100%'.

Cette solution témoin constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de rivaroxaban.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1,5 ml de solution d'acide acétique 96%. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,4 mg de rivaroxaban total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Travail de Rivaroxaban 80%'.

Cette solution témoin constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de rivaroxaban indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en rivaroxaban 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 RIVAROXABAN DE 2,5 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 10 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 2,5 ml de solution d'acide acétique 96% en utilisant une pipette graduée appropriée. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.

10 MG DE RIVAROXABAN 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 solution d'acide acétique à 96% à l'aide de pipette graduée appropriée et extraire le rivaroxaban. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

15 MG DE RIVAROXABAN 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 solution d'acide acétique à 96% à l'aide de pipette graduée appropriée et extraire le rivaroxaban. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

20 MG DE RIVAROXABAN 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 solution d'acide acétique à 96% à l'aide de pipette graduée appropriée et extraire le rivaroxaban. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 1 mg de rivaroxaban total par ml et être étiquetées comme 'Solution Essai du Stock de Rivaroxaban'. 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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de solution d'acide acétique à 96%. Fermer, agiter la fiole et l'étiqueter en tant que 'Solution Essai du Travail de Rivaroxaban'.

La concentration prévue de rivaroxaban dans la solution essai d'usage est de 0,5 mg par ml et doit correspondre à la concentration de rivaroxaban de la solution témoin du travail 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 ou aux différentes concentrations de médicaments 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 directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ une minute. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 15 ml d'acétate d'éthyle, 5 ml de méthanol 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 15 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 doucement tous les résidus de solvant. Pour ce faire, tenir la plaque chromatographique avec la paire de pincettes dans le flux d'air chaud directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ deux minutes. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

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 rivaroxaban.

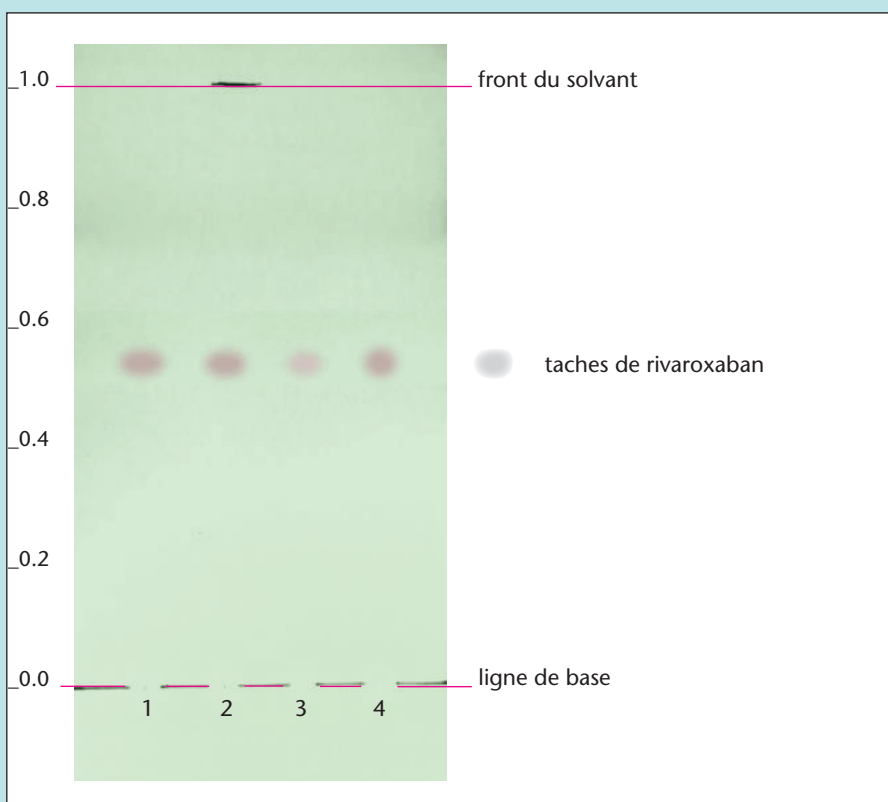
CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

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

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

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

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



XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,53 indique la présence de rivroxaban dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation du rivroxaban, 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 rivroxaban et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de rivroxaban. Les agents actifs apparentés, par exemple l'apixaban, présenteraient un facteur de rétention d'environ 0,45 et produisent même une fluorescence blanche lorsqu'ils sont observés sous la lumière UV à 366 nm émise par une lampe de laboratoire puissante. 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. Le lactose reste invisible mais des tests supplémentaires de coloration à l'acide sulfurique et à la chaleur indiquent qu'il apparaîtrait à environ 0,10 s'il était présent dans la formulation.

XII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de rivroxaban 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, puis signaler les résultats. Prendre des photos, par exemple, avec un appareil photo de smartphone si possible. Chaque comprimé contient généralement 1, 2, 3 ou 5 mg de sel de sodium de warfarine (coumaphène).

D'autres dosages existent. 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 warfarine à libération immédiate doivent également réussir le test de désintégration décrit au début du manuel principal. 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 warfarine sodique, avec ou sans contenu d'isopropanol, est extraite des comprimés ou des gélules avec un volume connu de méthanol et son identité et son contenu sont ensuite vérifiés par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un agent de référence approprié.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- 1) Pilon
- 2) Feuille d'aluminium
- 3) Entonnoir
- 4) Spatule
- 5) Bande adhésive
- 6) Stylo feutre
- 7) Crayon et règle graduée
- 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 F₂₅₄, 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) Cuve de révélation à l'iode
- 20) Toluène
- 21) Méthanol
- 22) Acétate d'éthyle
- 23) Solution d'acide acétique 96%
- 24) Substance témoin, per exemple, des comprimés de warfarine sodique à 5 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 5 mg de sel de sodium de warfarine. 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 10 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 5 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 1 mg de warfarine sodique totale par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Stock de Warfarine*'. 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)

La solution témoin du stock ne nécessite aucune dilution supplémentaire. Elle représente déjà la concentration finale de travail de 1 mg de warfarine sodique totale par ml. Pour une manipulation plus pratique, une partie du liquide surnageant peut être transférée dans un nouveau flacon de 10 ml.

Cette solution témoin constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de warfarine sodique.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 2 ml de solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 0,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,8 mg de warfarine sodique totale par ml et être étiquetée en tant que '*Solution Témoin du Travail de Warfarine 80%*'.

Cette solution témoin constitue un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de warfarine sodique 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 WARFARINE SODIQUE DE 2 MG PAR UNITE

Prendre trois comprimés ou gélules entiers d'un médicament approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en fine poudre. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 25 ml. La poudre obtenue à partir des gélules doit être placée directement dans un flacon ajoutant aussi les six parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 6 ml de méthanol en utilisant 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.

3 MG DE WARFARINE SODIQUE PAR UNITE

Placer la poudre obtenue à partir de deux échantillons entiers de comprimés ou de gélules dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 6 ml de méthanol avec une pipette graduée appropriée et extraire la warfarine sodique. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

5 MG DE WARFARINE SODIQUE 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 10 ml, ajouter 5 ml de méthanol avec une pipette graduée appropriée et extraire la warfarine sodique. Continuer à travailler comme décrit ci-dessus.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 1 mg de warfarine sodique totale par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Warfarine*'. 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

Les solutions essai du stock ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elles constituent déjà la concentration de travail de 1 mg de warfarine sodique par ml. Quand elle est préparée sur la base d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration de warfarine sodique de la solution témoin du travail supérieure produite ci-dessus. Pour faciliter la manipulation, une partie du liquide surnageant peut être transférée dans un flacon de 10 ml.

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 ou aux différentes concentrations de médicaments 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.

Laisser les taches sécher à l'air libre pendant une à deux minutes jusqu'à ce que le méthanol ait presque complètement disparu. Éviter tout séchage à la chaleur.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

À l'aide des pipettes graduées appropriées, ajouter 15 ml de toluène, 5 ml d'acétate d'éthyle 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 15 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 doucement tous les résidus de solvant. Pour ce faire, tenir la plaque chromatographique avec la paire de pincettes dans le flux d'air chaud directement au-dessus de la plaque chauffante pendant environ deux minutes. Secouer constamment la plaque CCM et chaque fois que la chromatoplaquette se déplace vers le bas, sa face inférieure peut toucher la surface de la plaque chauffante pendant quelques fractions de seconde.

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. Pour une identification et une quantification plus poussées de la warfarine, colorer la plaque de chromatographie avec des vapeurs d'iode. Observer à nouveau la plaque chromatographique colorée sous une lumière UV à 254 nm. Certaines taches précédemment observées peuvent apparaître plus fortes, ce qui permet une meilleure lecture. Toutes les méthodes de détection ci-dessus s'appliquent également à la phénprocoumone, un ingrédient pharmaceutique actif étroitement lié à la warfarine.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,38 indique la présence de warfarine dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation de la warfarine, ce dernier cas étant plus probable lorsqu'il est associé à une tache principale plus petite. Une tache

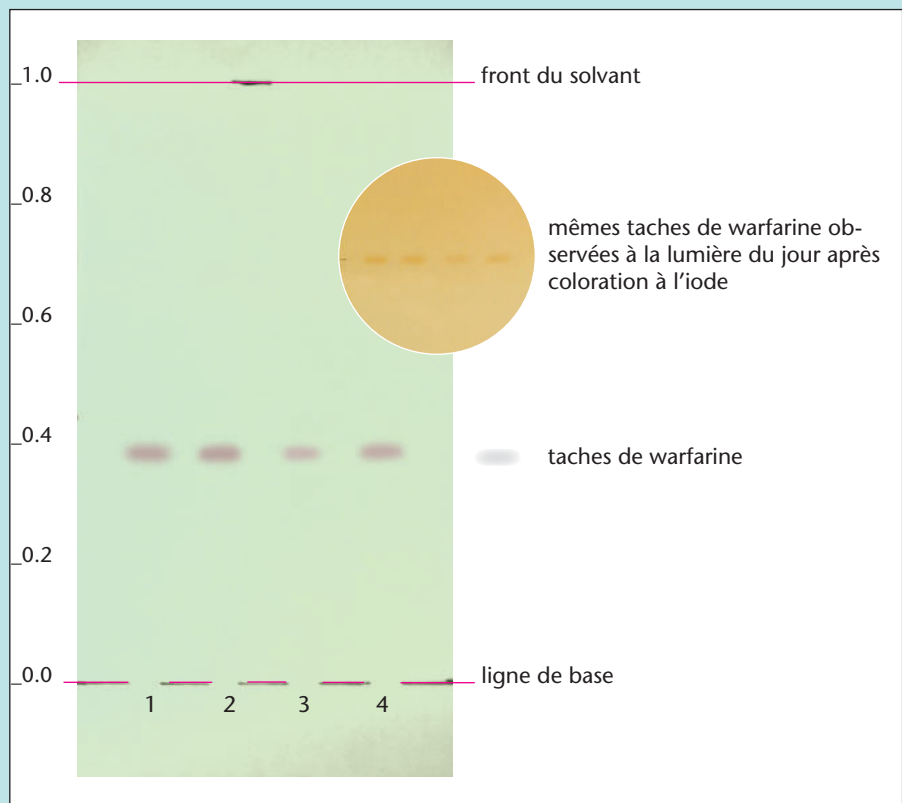
CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

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

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

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

Développement. n° 4:
Solution témoin inférieure représentant 80% de warfarine totale



principale plus petite de la solution essai peut également indiquer une faible teneur en warfarine et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de warfarine. La phénprocoumone, étroitement apparentée, présenterait un facteur de rétention d'environ 0,52. 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.

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

Lorsque la plaque CCM est exposée à la vapeur d'iode, toutes les taches de warfarine précédemment observées à 254 nm deviennent brun clair, les différentes nuances et tailles indiquant les différentes concentrations de warfarine. La phénprocoumone se comporte ici de manière très similaire. Cependant, la coloration est relativement faible pour les deux composés.

XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de warfarine 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.

- 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 plus de 100 pays.

Ce supplément au Manuel Minilab élargit la liste des médicaments cardiovasculaires à un total des vingt ingrédients pharmaceutiques actifs, y compris leurs associations à dose fixe pour traiter les troubles cardiovasculaires.

L'inventaire des méthodes du manuel GPHF-Minilab™ comprend désormais une collection de méthodes de test pour 113 principes actifs pour la vérification rapide de la qualité d'une large gamme de produits pharmaceutiques finis.



Global Pharma Health Fund
www.gphf.org