

Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab™

Supplément 2025
sur les médicaments palliatifs
en l'auto-traitement, y compris
des tutoriels vidéo

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

Table des matières

Chapitre	Page
Santé et sécurité.....	3
Nouveaux protocoles d'essai du Minilab	4
7.120 Butylhyoscine/Butylscopolamine y compris les solutions injectables.....	4
7.121 Diphénhydramine en tant que chlorhydrate.....	8
7.122 Lopéramide en tant que chlorhydrate y compris les comprimés orodispersibles	12
7.123 Loratadine	16
7.124 Norfloxacine combinée ou non au tinidazole	20
7.125 Tinidazole combiné ou non à la norfloxacine y compris le métronidazole apparenté.....	24

Pour une meilleure compréhension, ce supplément contient des codes de réponse rapide (QR Codes) permettant d'accéder à des vidéos tutorielles. Voir exemple ci-dessous.



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.

Examen primaire du médicament via inspection physique

I. INSPECTION PHYSIQUE

On l'utilise en général sous forme de bromure. Le bromure de butylhyoscine est également connu sous le nom de bromure de butylscopolamine. Les deux noms sont interchangeables. 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 10 mg de bromure de butyle d'hyoscine et chaque produit injectable 20 mg de

bromure de butyle d'hyoscine par ml de solution. Il existe des coformulations avec le paracétamol. Vérifier le poids total des comprimés à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Toutes les formulations de comprimés de butylhyoscine 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. En ce qui concerne les solutions injectables, le fait de ne pas présenter une solution claire et incolore, sans brume ni particules, constitue également un défaut majeur. Les comprimés dragéifiés sont exclus.

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, dont la forme pharmaceutique ou l'emballage sont défectueux ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées dans une langue étrangère, ou encore les médicaments stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un test 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 butylhyoscine est extraite des comprimés et les solutions injectables sont diluées à l'aide d'un volume connu de méthanol, puis l'identité et la teneur du cation butylscopolamine dissous sont vérifiées 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 gradué
- 8) Fioles de verre de 10 ml
- 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml)
- 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml)
- 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 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) Paire de ciseaux
- 17) Paire de pincettes
- 18) Lampe UV de 254 nm
- 19) Cuve de revelation à l'iode
- 20) Acétone
- 21) Méthanol
- 22) Acétate d'éthyle
- 23) Chlorure de sodium
- 24) Solution d'ammoniaque 25%
- 25) Substance témoin, des comprimés du bromure de butylhyoscine de 10 mg par exemple

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 10 mg du bromure de butylhyoscine. Envelopper deux comprimés de référence dans une feuille d'aluminium et les 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 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 4 mg du bromure de butylhyoscine totale par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Stock de Butylhyoscine*'. 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 4 mg du bromure de butylhyoscine total 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 butylhyoscine.

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

A l'aide des pipettes graduées appropriées, introduire 2 ml de la 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 3,2 mg du bromure de butylhyoscine total par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Travail de Butylhyoscine 80%*'.

Cette solution témoin représente un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de butylhyoscine 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 A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 10 MG DU BROMURE DE BUTYLHYOSCINE A L'UNITE

Prendre un comprimé entier d'un médicament approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme d'habitude, les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en fine poudre à l'aide d'un pilon. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 10 ml. Pour l'extraction, ajouter 2,5 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.

A PARTIR DE SOLUTIONS INJECTABLES DÉCLARANT CONTENIR 20 MG DE BROMURE DE BUTYLHYOSCINE PAR ML

Ouvrir une ampoule et transvaser son contenu dans un flacon de verre de laboratoire de 10 ml. À l'aide des pipettes graduées appropriées, transférer 0,5 ml du liquide obtenu dans un deuxième flacon et ajouter 2,0 ml de méthanol. Il s'agit de la solution essai du stock qui doit être claire et incolore.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 4 mg du bromure de butylhyoscine totale par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Butylhyoscine*'. 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 4 mg du bromure de butylhyoscine par ml. Quand elle est préparée sur la base d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration de butylhyoscine 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 ou combinaisons 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 15 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 appropriées, ajouter 7 ml de méthanol, 7 ml d'acétate d'éthyle, 7 ml d'acétone et 3,5 ml de la solution d'ammoniaque 25 % dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Enfin, ajouter 1 g de sel de chlorure de sodium, fermer le récipient et mélanger soigneusement. La majeure partie du sel reste insoluble. 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 18 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 identifier et quantifier le bromure de butylhyoscine, colorer la plaque de chromatographie fraîche avec de l'iode et l'observer d'abord à la lumière du jour, puis à nouveau sous la lumière UV à 254 nm.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

S'il est présent, le bromure de butylhyoscine est à peine détectable. En l'absence de combinaison avec d'autres médicaments, aucune autre tache importante ne doit être visible lors de l'analyse de la solution de test.

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

Lors de l'exposition du chromatoplate à la vapeur d'iode, toutes les taches représentant la butylhyoscine deviennent brun jaunâtre et deviennent visibles à une distance de déplacement d'environ 0,40. Observer encore la plaque lorsque l'iode s'évapore. Les taches reflétant des produits de mauvaise qualité disparaissent d'abord, progressivement suivies par les taches de référence représentant une teneur en médicament de 80 et 100 pour cent, respectivement.

CHROMATOGRAMME OBSERVE A
LA LUMIERE DU JOUR APRES
COLORATION A L'IODE

Développement n° 1:

Solution témoin supérieure représentant
100% de la butylhyoscine totale

Développement n° 2:

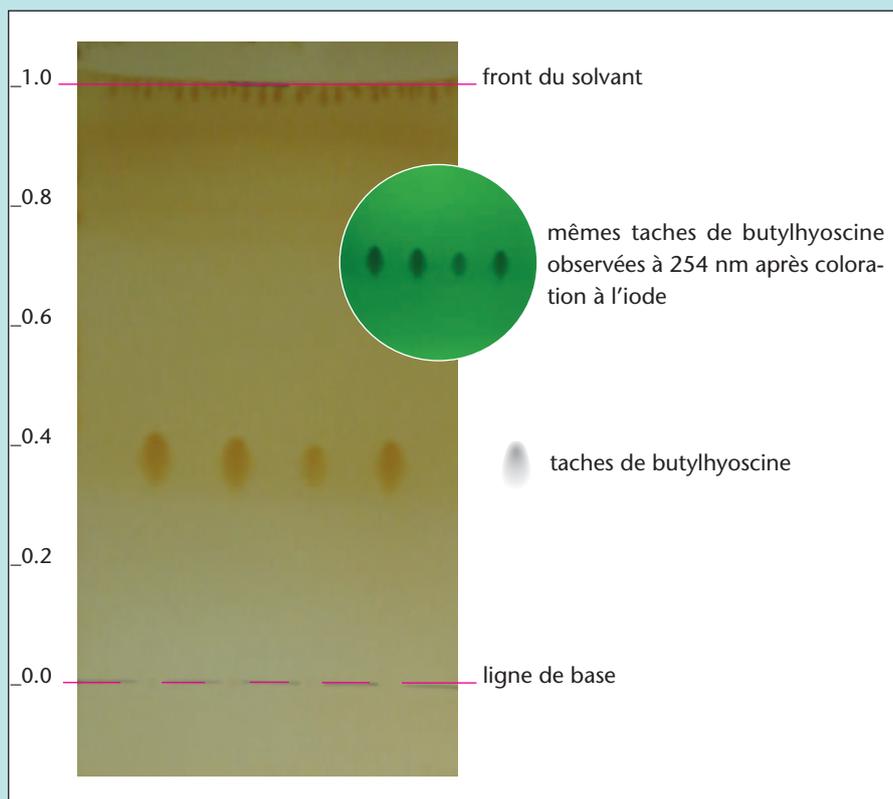
Un médicament de bonne qualité à teneur
acceptable en butylhyoscine

Développement n° 3:

Un médicament de basse qualité à teneur
faible inacceptable en butylhyoscine

Développement n° 4:

Solution témoin inférieure représentant
80% de la butylhyoscine totale



XIII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV
DE 254 NM APRES COLORATION A
L'IODE

Toutes les taches de butylhyoscine précédemment observées à une distance de déplacement d'environ 0,40 lors de la coloration à l'iode deviennent encore plus fortes. Des taches fortes supplémentaires provenant de la solution de test suggèrent la présence d'autres principes actifs ou la dégradation de la butylhyoscine, en particulier si la tache principale est plus petite. Une tache principale plus petite peut également indiquer une faible teneur en butylhyoscine, tandis que l'absence de tache suggère l'absence totale de butylhyoscine. Les agents auxiliaires présents dans différents produits finis peuvent produire des taches faibles, soit près du front du solvant, soit à la ligne de base. Le sucre des comprimés dragéifiés est visible à une distance de migration inférieure à 0,1 lorsque la plaque est colorée avec une solution méthanolique d'acide sulfurique.

XIV. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de butylhyoscine 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.

7.121 Diphénhydramine en tant que chlorhydrate

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 25 ou 50 mg de chlorhydrate de diphénhydramine. D'autres dosages et coformulations avec le paracétamol 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 diphénhydramine 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, dont la forme pharmaceutique ou l'emballage sont défectueux ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées dans une langue étrangère, ou encore les médicaments stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un test 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 chlorhydrate de diphénhydramine est extrait des comprimés ou des gélules à l'aide d'un volume connu de méthanol et son identité et sa teneur sont ensuite vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) en comparaison avec un agent de référence approprié.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|---|
| 1) Pilon | 14) Plaque chauffante |
| 2) Feuille d'aluminium | 15) Papier filtre |
| 3) Entonnoir | 16) Paire de ciseaux |
| 4) Spatule | 17) Paire de pincettes |
| 5) Bande adhésive | 18) Lampe UV de 254 nm |
| 6) Stylo feutre | 19) Cuve de revelation à l'iode |
| 7) Crayon et règle gradué | 20) Bécher en plastique (250 ml) |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 21) Ninhydrine |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml) | 22) Méthanol |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml) | 23) Toluène |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F ₂₅₄ taille 5 x 10 cm | 24) Acétate d'éthyle |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité | 25) Solution d'ammoniaque 25% |
| 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml) | 26) Solution d'acide sulfurique 96% |
| | 27) Substance témoin, des comprimés de chlorhydrate de diphénhydramine de 50 mg par exemple |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 50 mg de chlorhydrate de diphénhydramine. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 10 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. Fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 5 mg de chlorhydrate de diphénhydramine total par ml et être étiquetée comme 'Solution Témoin du Stock de Diphénhydramine'. 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 2 ml de la solution du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 2 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 2,5 mg de chlorhydrate de diphénhydramine totale par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Travail de Diphénhydramine 100%*'.

Cette solution témoin constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de chlorhydrate de diphénhydramine. Pour plus d'informations sur le pipetage, voir la vidéo via le code QR fourni ici.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 2 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 3 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 2 mg de chlorhydrate de diphénhydramine totale par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Travail de Diphénhydramine 80%*'.

Cette solution témoin représente un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de diphénhydramine indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en diphénhydramine 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 A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 25 MG DE CHLORHYDRATE DE DIPHENHYDRAMINE A L'UNITE

50 MG DE CHLORHYDRATE DE
DIPHENHYDRAMINE A L'UNITE



Prendre un comprimé ou une gélule entière d'un médicament approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme d'habitude, les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en fine poudre à l'aide d'un pilon. 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 deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 5 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.

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml, ajouter 10 ml de méthanol à l'aide d'une pipette graduée appropriée et extraire le chlorhydrate de diphénhydramine. Poursuivre le travail comme décrit ci-dessus.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 5 mg de chlorhydrate de diphénhydramine total par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Diphénhydramine*'. Ne préparer ces solutions que juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles. De plus amples informations sur la préparation des échantillons sont disponibles dans la vidéo via le code QR fourni ici.

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

A l'aide des pipettes graduées, introduire 2 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 2 ml de méthanol. Fermer la fiole, agiter et étiqueter comme '*Solution Essai d'Usage de Diphénhydramine*'. La concentration attendue de chlorhydrate de diphénhydramine dans cette solution essai de travail est de 2,5 mg par ml et doit correspondre à la concentration de chlorhydrate de diphénhydramine 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 suivante, 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 ou combinaisons 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 10 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 appropriées, ajouter 10 ml de méthanol, 5 ml d'acétate d'éthyle, 5 ml de toluène et 1 ml de la solution d'ammoniaque 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 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. Pour plus d'informations sur le processus de séchage, voir la vidéo via le code QR fourni ici.

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 diphénhydramine, colorer la plaque chromatographique fraîche avec de l'iode et l'observer la plaque à la lumière du jour et à nouveau sous une lumière UV de 254 nm. Après évaporation de l'iode, colorer la plaque avec une solution méthanolique d'acide sulfurique et sécher à la chaleur. En utilisant une deuxième chromatoplate fraîchement développée, la coloration à l'acide sulfurique peut être remplacée par une coloration à la ninhydrine.

Pour la coloration à l'acide sulfurique, remplir le bécher en plastique de 250 ml fourni avec 190 ml de méthanol suivis de 10 ml d'acide sulfurique à 96 %, puis mélanger soigneusement. Après refroidissement du mélange, immerger la plaque de chromatographie, face supérieure d'abord, puis la retirer immédiatement. Laisser l'excès de liquide s'écouler sur une serviette en papier, essuyer le dos de la plaque et la sécher sur la plaque chauffante à la chaleur maximale pendant 30 à 60 secondes. Après le séchage, observer la plaque colorée à la lumière du jour.

Pour la coloration à la ninhydrine, dissoudre 3 g de ninhydrine dans 150 ml de méthanol et 30 ml d'acide acétique à 96 % dans le bécher de 250 ml fourni. Immerger la plaque de chromatographie, face supérieure d'abord, à l'aide d'une paire de pincettes, puis la retirer immédiatement et laisser l'excès de liquide s'écouler sur une serviette en papier. Après une minute, essuyer le dos de la plaque et la sécher sur la plaque chauffante à pleine puissance. Les taches de diphénhydramine apparaissent presque instantanément à la lumière du jour. Reportez-vous à la page 36 du manuel principal pour la coloration à la ninhydrine. Remarque: la ninhydrine peut tacher la peau, mais les taches violettes s'estompent en un ou deux jours et ne sont pas nocives. Pour plus d'informations sur les processus de détection, voir la vidéo via le code QR fourni ici.

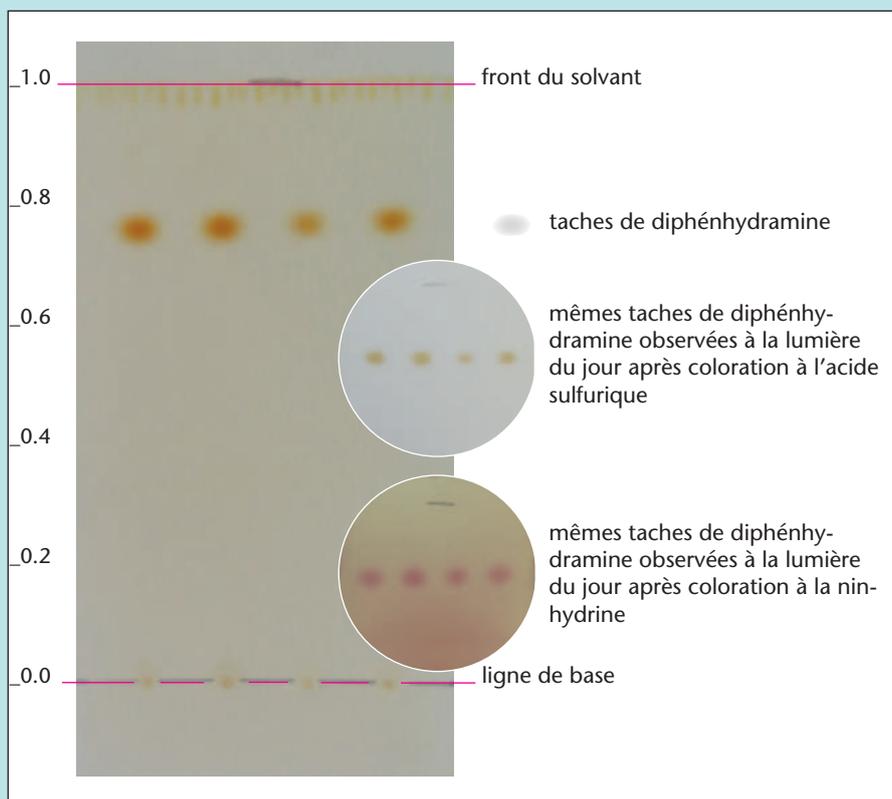


XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM APRES COLORATION A L'IODE

Les taches faibles de diphénhydramine précédemment observées à une distance de déplacement d'environ 0,77 sans coloration à l'iode deviennent maintenant très fortes. Des taches fortes supplémentaires provenant de la solution de test suggèrent la présence d'autres principes actifs ou la dégradation de la diphénhydramine, en particulier si la tache principale est plus petite. Une tache principale plus petite peut également indiquer une

CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'IODE

- Développement n° 1:
Solution témoin supérieure représentant 100% de la diphénhydramine totale
- Développement n° 2:
Un médicament de bonne qualité à teneur acceptable en diphénhydramine
- Développement n° 3:
Un médicament de basse qualité à teneur faible inacceptable en diphénhydramine
- Développement n° 4:
Solution témoin inférieure représentant 80% de la diphénhydramine totale



faible teneur en diphénhydramine, tandis que l'absence de tache suggère l'absence totale de diphénhydramine. Les agents auxiliaires présents dans différents produits finis peuvent produire des taches faibles, soit près du front du solvant, soit à la ligne de base.

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

Lors de l'exposition de la chromatoplaquette à la vapeur d'iode, toutes les taches de diphénhydramine déjà observées à 254 nm deviennent brun jaunâtre. Observer encore la plaque lorsque l'iode s'évapore. Les taches reflétant des produits de mauvaise qualité disparaissent d'abord, progressivement suivies par les taches de référence représentant une teneur en médicament de 80 et 100 pour cent, respectivement.

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

Lorsque l'iode s'est évaporé et que la plaque de chromatographie est colorée à l'acide sulfurique, toutes les taches de diphénhydramine deviennent gris jaunâtre et sont visibles à la lumière du jour. Les lectures semi-quantitatives sont ici très bonnes.

XIV. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOURS APRES COLORATION A LA NINHYDRINE

Lorsque l'iode s'est évaporé et que la plaque de chromatographie est colorée à la ninhydrine, toutes les taches de diphénhydramine deviennent rouge-rose et sont visibles à la lumière du jour. Les lectures semi-quantitatives peuvent devenir un défi dans ce cas.

XV. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de diphénhydramine 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 classique, comprimé orodispersible ou gélule contient généralement 2 mg de chlorhydrate de lopéramide. 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 lopéramide 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, dont la forme pharmaceutique ou l'emballage sont défectueux ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées dans une langue étrangère, ou encore les médicaments stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un test 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 chlorhydrate de lopéramide est extrait des comprimés ou des gélules à l'aide d'un volume connu de méthanol et son identité et sa teneur sont ensuite vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) en comparaison avec 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 gradué
- 8) Fioles de verre de 10 ml
- 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml)
- 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml)
- 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 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) Paire de ciseaux
- 17) Paire de pincettes
- 18) Lampe UV de 254 nm
- 19) Cuve de revelation à l'iode
- 20) Méthanol
- 21) Acétate d'éthyle
- 22) Solution d'ammoniaque 25%
- 23) Substance témoin, des comprimés de chlorhydrate de lopéramide de 2 mg par exemple

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 2 mg de chlorhydrate de lopéramide. Envelopper deux comprimés de référence dans une feuille d'aluminium et les réduire en poudre fine 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 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 chlorhydrate de lopéramide total par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Stock de Lopéramide*'. 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 chlorhydrate de lopéramide total 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 chlorhydrate de lopéramide.

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

A l'aide des pipettes graduées appropriées, introduire 1 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 0,25 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,8 mg de chlorhydrate de lopéramide total par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Travail de Lopéramide 80%*'.

Cette solution témoin représente un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de lopéramide indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en lopéramide 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 A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 2 MG DE CHLORHYDRATE DE LOPÉRAMIDE A L'UNITE

Prendre deux comprimés ou gélules entiers d'un médicament approprié échantillonné sur le terrain. Comme d'habitude, les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en fine poudre à l'aide d'un pilon. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de laboratoire de 10 ml. La poudre obtenue à partir des gélules doit être placée directement dans un flacon ajoutant aussi les quatre parties vides d'enveloppe des gélules à la fin. Pour l'extraction, ajouter 4 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.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 1 mg de chlorhydrate de lopéramide total par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Lopéramide*'. 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 chlorhydrate de lopéramide par ml. Quand elle est préparée sur la base d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration de lopéramide 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.

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 15 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 appropriées, ajouter 17 ml d'acétate d'éthyle, 2 ml de méthanol et 0,5 ml de la solution d'ammoniaque 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 12 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer le niveau atteint par le front du solvant au moyen d'un trait fin, puis faire sécher 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 identifier et quantifier le lopéramide, colorer la plaque de chromatographie fraîche avec de l'iode et l'observer d'abord à la lumière du jour, puis sous lumière UV à 254 nm.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOURS APRES COLORATION A L'IODE

Lorsque la plaque de chromatographie est exposée à la vapeur d'iode, les taches très légères de lopéramide qui ont pu être observées précédemment à 254 nm à une distance d'environ 0,64 deviennent brun jaunâtre. Observer également la plaque pendant l'évaporation de l'iode. Les taches reflétant les produits de qualité inférieure disparaissent progressivement en premier, suivies par les taches de référence représentant une teneur en médicament de 80 ou 100 %.

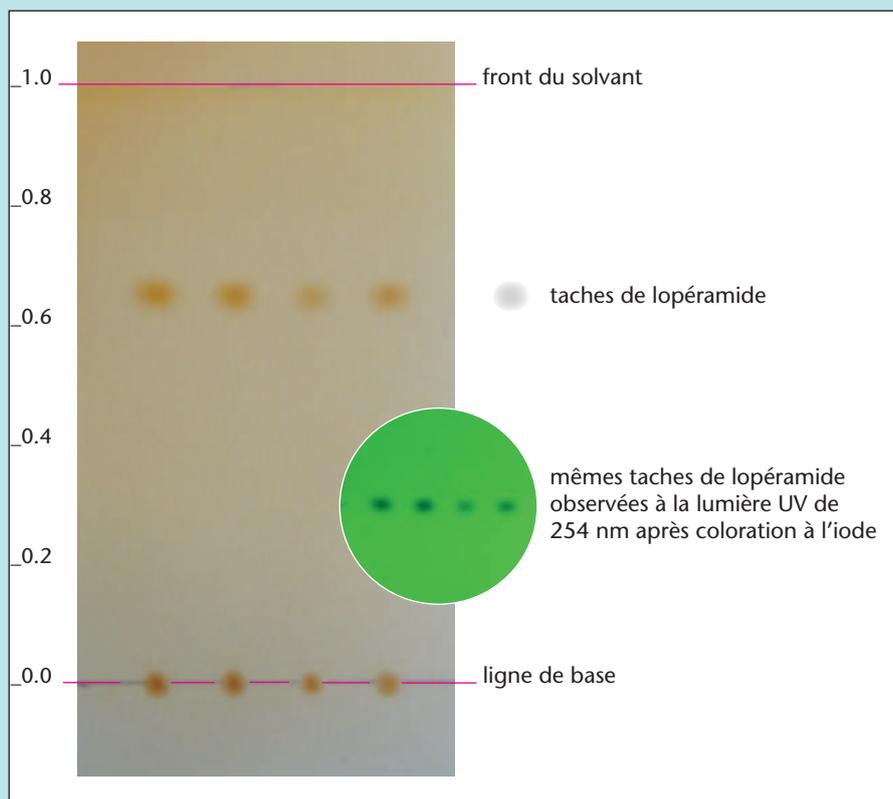
CHROMATOGRAMME OBSERVE A
LA LUMIERE DU JOUR APRES
COLORATION A L'IODE

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

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

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

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



XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV
DE 254 NM APRES COLORATION A
L'IODE

Toutes les taches faibles de lopéramide précédemment observées à une distance de déplacement d'environ 0,64 sans coloration à l'iode deviennent maintenant très fortes. Des taches fortes supplémentaires provenant de la solution de test suggèrent la présence d'autres principes actifs ou la dégradation du lopéramide, en particulier si la tache principale est plus petite. Une tache principale plus petite peut également indiquer une faible teneur en lopéramide, tandis que l'absence de tache suggère l'absence totale du lopéramide. Les agents auxiliaires présents dans différents produits finis peuvent produire des taches faibles, soit près du front du solvant, soit à la ligne de base.

XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de lopéramide 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.

7.123 Loratadine

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 ou un smartphone si possible. Chaque comprimé contient généralement 10 mg de loratadine par base libre. 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 compr-

més ou de gélules de lopéramide 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.

sont défectueux ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées dans une langue étrangère, ou encore les médicaments stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un test de chromatographie sur couche mince.

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, dont la forme pharmaceutique ou l'emballage

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

I. PRINCIPE DU TEST

La loratadine est extraite des comprimés ou des gélules à l'aide d'un volume connu de méthanol et son identité et sa teneur sont ensuite vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) en comparaison avec 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) Paire de ciseaux
- 17) Paire de pincettes
- 18) Lampe UV de 254 nm
- 19) Cuve de revelation à l'iode
- 20) Méthanol
- 21) Acétate d'éthyle
- 22) Substance témoin, des comprimés de loratadine de 10 mg par exemple

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 10 mg de loratadine. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en poudre fine à l'aide d'un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de 25 ml et faire écouler tous les résidus solides à l'aide de 8 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée. Fermer le flacon de laboratoire et agiter pendant environ trois minutes jusqu'à ce que la plupart des solides soient dissous. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 1,25 mg de loratadine totale par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Stock de Loratadine*'. 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 1,25 mg de loratadine 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 loratadine.

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

A l'aide des pipettes graduées appropriées, introduire 2 ml de la 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 1 mg de loratadine totale par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Travail de Loratadine 80%*'.

Cette solution témoin représente un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de loratadine indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en loratadine 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 A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 10 MG DE LORATADINE A L'UNITE

Prendre un comprimé ou une gélule entière d'un médicament approprié échantillonné sur le terrain. Comme d'habitude, les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en fine poudre à l'aide d'un pilon. 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 deux parties vides d'enveloppe des gélules à la fin. Pour l'extraction, ajouter 8 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.

Toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 1,25 mg de loratadine totale par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Loratadine*'. 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 1,25 mg de loratadine par ml. Quand elle est préparée sur la base d'un produit de haute qualité, la solution essai doit égaler la concentration de loratadine 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.

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 15 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 appropriées, ajouter 10 ml d'acétate d'éthyle et 10 ml de méthanol 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 13 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 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.

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 loratadine, la plaque de chromatographie fraîche est colorée à l'iode dans la chambre à iode et les analyses sont lues à la lumière du jour.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,71 indique la présence de loratadine dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation de la loratadine, 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 loratadine et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de loratadine. Les agents auxiliaires incorporés dans différents produits finis peuvent provoquer des taches plus pâles ou quasi inexistantes se déplaçant le long du front des solvants ou émergeant près ou sur la ligne de base.

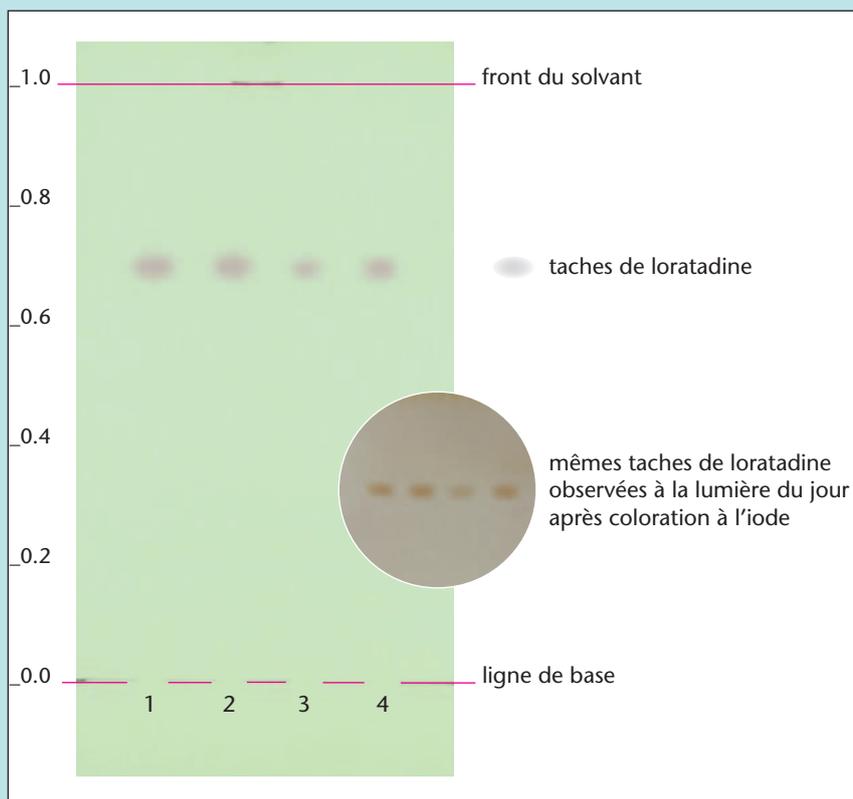
CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

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

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

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

Développement n° 4:
Solution témoin inférieure représentant 80% de la loratadine totale



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

Lors de l'exposition du chromatoplate à la vapeur d'iode, toutes les taches de loratadine déjà observées à 254 nm deviennent brun jaunâtre. Les taches de loratadine colorées à l'iode s'estompent rapidement. Observer également la plaque pendant l'évaporation de l'iode. Les taches reflétant les produits de qualité inférieure disparaissent progressivement en premier, suivies par les taches de référence représentant une teneur en médicament de 80 ou 100 %.

XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de loratadine 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 400 mg de norfloxacine par base libre. D'autres dosages et formulations avec le tinidazole 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 norfloxacine 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, dont la forme pharmaceutique ou l'emballage sont défectueux ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées dans une langue étrangère, ou encore les médicaments stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un test 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

Associée ou non au tinidazole, la norfloxacine est extraite des comprimés ou des gélules à l'aide d'un volume connu de méthanol acidifié et son identité et sa teneur sont ensuite vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) en comparaison avec un agent de référence approprié. Pour un contrôle rapide de la qualité du tinidazole, se référer au protocole correspondant.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|---|
| 1) Pilon | 14) Plaque chauffante |
| 2) Feuille d'aluminium | 15) Papier filtre |
| 3) Entonnoir | 16) Paire de ciseaux |
| 4) Spatule | 17) Paire de pincettes |
| 5) Bande adhésive | 18) Lampe UV de 254 nm |
| 6) Stylo feutre | 19) Lampe UV de 366 nm |
| 7) Crayon et règle gradué | 20) Cuve de révélation à l'iode |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 21) Bêcher en plastique de 250 ml |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml) | 22) Ninhydrine |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml) | 23) Toluène |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F ₂₅₄ taille 5 x 10 cm | 24) Acétone |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité | 25) Méthanol |
| 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml) | 26) n-Butanol |
| | 27) Solution d'ammoniaque 25% |
| | 28) Solution d'acide acétique 96% |
| | 29) Substance témoin, des comprimés de norfloxacine de 400 mg par exemple |

III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK

Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, par exemple des comprimés contenant 400 mg de norfloxacine. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en poudre fine 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 en commençant par 8 ml de solution d'acide acétique à 96 % et en poursuivant avec 12 ml de méthanol à l'aide des pipettes graduées appropriées. 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 20 mg de norfloxacine totale par ml et être étiquetée comme 'Solution Témoin du Stock de Norfloxacine'. 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>A l'aide des pipettes graduées, introduire 0,5 ml de la solution du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9,5 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 1 mg de norfloxacin totale par ml et être étiquetée comme '<i>Solution Témoin du Travail de Norfloxacin 100%</i>'.</p> <p>Cette solution témoin constitue un médicament de bonne qualité contenant 100% de norfloxacin par base libre.</p>
<p>V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMIT INFERIEURE)</p>	<p>A l'aide des pipettes graduées, introduire 0,5 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 12 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 0,8 mg de norfloxacin totale par ml et être étiquetée comme '<i>Solution Témoin du Travail de Norfloxacin 80%</i>'.</p> <p>Cette solution témoin représente un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de norfloxacin indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en norfloxacin constitue la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique donné. Les limites des pharmacopées ne s'appliquent pas dans notre contexte.</p>
<p>VI. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI DU STOCK A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 400 MG DE NORFLOXACINE A L'UNITE</p>	<p>Prendre un comprimé ou une gélule entière d'un médicament approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme d'habitude, les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en fine poudre à l'aide d'un pilon. 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 deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 8 ml de solution d'acide acétique à 96 % suivis de 12 ml de méthanol à l'aide des pipettes graduées appropriées. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.</p> <p>Qu'elles soient ou non associées au tinidazole, toutes les solutions essai du stock doivent finalement contenir 20 mg de norfloxacin totale par ml et être étiquetées comme '<i>Solution Essai du Stock de Norfloxacin</i>'. Préparer à nouveau ces solutions pour chaque test. Continuer à travailler avec les liquides surnageants clairs ou troubles.</p>
<p>VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE</p>	<p>A l'aide des pipettes graduées, introduire 0,5 ml de la solution essai du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 9,5 ml de méthanol. Fermer la fiole, agiter et étiqueter comme '<i>Solution Essai d'Usage de Norfloxacin</i>'. La concentration attendue de norfloxacin par base libre dans cette solution essai de travail est de 1 mg par ml et doit correspondre à la concentration de norfloxacin de la solution témoin du travail supérieure produite ci-dessus.</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 il est montré sur la page suivante, 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 ou aux différentes concentrations ou combinaisons 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.</p> <p>Enfin, sécher les taches. Pour ce faire, placer la plaque chromatographique sur la plaque chauffante pendant environ 15 secondes.</p>
<p>IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME</p>	<p>A) Phase mobile pour les monopréparations de norfloxacin et les associations de norfloxacin/tinidazole: A l'aide des pipettes graduées appropriées, ajouter 16 ml de n-butanol, 2 ml de méthanol et 7 ml de la solution d'ammoniacque 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</p>

cuve et fermer avec le bouchon à vis. Laisser le front du solvant se déplacer sur une longueur correspondant approximativement à la moitié de la plaque; la durée du développement est de 30 minutes environ. Retirer la plaque TLC de la cuve, marquer le front du solvant et laisser l'excès de solvant s'évaporer en séchant la plaque TLC sur une plaque chauffante pendant environ une minute.

B) Phase mobile pour l'identification de la norfloxacin à côté d'autres fluoroquinolones, par exemple la ciprofloxacine, la lévofloxacine et la moxifloxacine: A l'aide des pipettes graduées appropriées, ajouter 10 ml de méthanol, 5 ml d'acétone, 2,5 ml de toluène et 5 ml de la solution d'ammoniacque 25 % dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Charger la plaque chromatographique avec des solutions d'extraction de diverses quinolones préparées selon les protocoles correspondants dans le manuel principal. Développer ensuite la plaque comme décrit ci-dessus, avec un temps de développement d'environ 20 minutes, lorsque la phase mobile traverse environ les trois quarts de la longueur de la plaque. Retirer la plaque CCM de la chambre, marquer le front du solvant et laisser l'excès de solvant s'évaporer en séchant la plaque CCM sur une plaque chauffante pendant environ une minute. Si la plaque CCM est trop peu ou pas du tout séchée, tous les résidus de solvant ne sont pas éliminés, de sorte que le fond de la plaque CCM devient coloré et que seules des taches de quinolone de couleur pâle sont produites lors de la coloration ultérieure à la ninhydrine.

X. REVELATION DES TACHES

Après avoir séché tous les résidus de solvant, observer les plaques chromatographiques des phases mobiles «A» et «B» sous une lumière UV à 254 et 366 nm avec les lampes à piles fournies. Assurer l'obscurité de l'espace de travail lors de l'utilisation de la lampe UV 366 nm. Pour une identification plus poussée de la norfloxacin, colorer la plaque fraîche avec de l'iode dans la chambre à iode, puis l'observer à la lumière du jour et sous une lumière UV de 254 nm.

Pour mieux distinguer les fluoroquinolones, observer la plaque de norfloxacin provenant de la phase mobile «B» d'abord sous une lumière UV de 366 nm et plus tard à la lumière du jour après évaporation de l'iode et coloration à la ninhydrine.

Pour la coloration à la ninhydrine, dissoudre 3 g de ninhydrine dans 150 ml de méthanol et 30 ml d'acide acétique à 96 % dans le bécher en plastique de 250 ml fourni. Immerger la plaque de chromatographie, face inférieure d'abord, à l'aide d'une paire de pincettes, puis la retirer immédiatement et laisser l'excès de liquide s'écouler sur une serviette en papier. Après une minute, essuyer le liquide restant au dos de la plaque et sécher la plaque sur la plaque chauffante jusqu'à ce que les taches de fluoroquinolone deviennent visibles en différentes couleurs. Le processus de coloration à la ninhydrine est décrit en détail à la page 36 du manuel principal. Les taches de ninhydrine sur la peau sont inoffensives et s'estompent en un jour ou deux.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

En provenance de la phase mobile «A», une forte tache bleue à une distance de déplacement d'environ 0,37 indique la présence de norfloxacin dans la solution essai. Les taches fortes supplémentaires générées par la solution essai indiqueraient d'autres médicaments ou une dégradation de la norfloxacin, 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 norfloxacin et s'il n'y a aucune tache, cela signifierait une absence totale de norfloxacin. En cas de combinaison avec le tinidazole, une deuxième tache apparaît à environ 0,77. Les agents auxiliaires incorporés dans différents produits finis peuvent provoquer des taches plus pâles ou quasi inexistantes se déplaçant le long du front des solvants ou émergeant près ou sur la ligne de base.

En provenance de la phase mobile «B», une tache bleue étirée à une distance d'environ 0,36 indique la norfloxacin, tandis que la ciprofloxacine apparaît à environ 0,44, la lévofloxacine à environ 0,48, la moxifloxacine à environ 0,53, et le tinidazole se dépose près du front du solvant. Ces différentes distances de déplacement permettent de différencier la norfloxacin des autres fluoroquinolones.

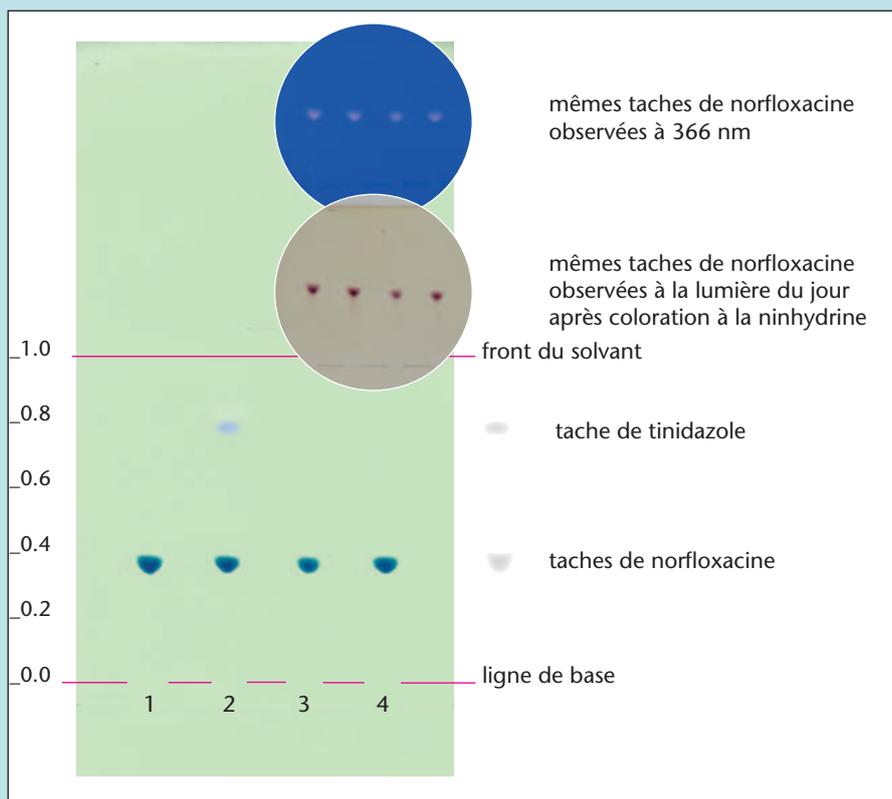
CHROMATOGRAMME DE LA PHASE MOBILE «A» OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

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

Développement n° 2:
Une association à dose fixe de tinidazole de bonne qualité avec une teneur acceptable en norfloxacine

Développement n° 3:
Une monopréparation de basse qualité à teneur faible inacceptable en norfloxacine

Développement n° 4:
Solution témoin inférieure représentant 80% de la norfloxacine totale



XII. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 366 NM

Quelle que soit leur origine, phase mobile «A» ou «B», toutes les taches de norfloxacine et d'autres fluoroquinolones, par exemple la ciprofloxacine, la lévofloxacine, la moxifloxacine, présentent des nuances variables de fluorescence blanche, la moxifloxacine étant la plus brillante. Ces nuances permettent d'identifier la norfloxacine parmi les fluoroquinolones. Alors que l'acide acétique contenu dans le liquide d'extraction déforme certaines taches de fluoroquinolones, la tache de norfloxacine n'est pas affectée.

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

Lorsqu'elles sont exposées à la vapeur d'iode, les plaques chromatographiques de la phase mobile «A» ou «B» présentent toutes les taches de norfloxacine et d'autres fluoroquinolones précédemment observées à 254 nm et 366 nm, qui deviennent brunes. Le tinidazole peut devenir visible, mais ses performances sont médiocres.

XIV. OBSERVATIONS A LA LUMIERE DU JOURS APRES COLORATION A LA NINHYDRINE

En partant de la phase mobile «B», la coloration de la chromatoplate avec de la ninhydrine révèle des couleurs différentes pour la norfloxacine et d'autres fluoroquinolones, ce qui facilite l'identification. Les taches de moxifloxacine deviennent bleues, celles de ciprofloxacine rouges, celles de norfloxacine également rouges et celles de lévofloxacine restent incolores et invisibles.

XV. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de norfloxacine 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 250, 300, 400, 500 ou 600 mg de tinidazole par base libre. D'autres dosages et coformulations avec la norfloxacine sont connus. Le tinidazole est souvent un composant de ce que l'on appelle les «pylo-kits» pour combattre les infections à *Helicobacter pylori* dans le trai-

tement du reflux gastro-œsophagien (reflux acide gastrique, ulcères gastriques, brûlures d'estomac), par exemple le pylo-kit composé de 500 mg de tinidazole, 250 mg de clarithromycine et 30 mg de lansoprazole. Toutefois, il s'agit de préparations composées monopréparatives contenues dans un kit et non de préparations combinées à dose fixe. Vérifier le poids total des comprimés ou le poids de remplissage des gélules à l'aide de la balance de poche électronique fournie. Toutes les formulations de comprimés ou de gélules de tinidazole 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, dont la forme pharmaceutique ou l'emballage sont défectueux ou dont les étiquettes sont incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées dans une langue étrangère, ou encore les médicaments stockés dans de mauvaises conditions, doivent être soumis à un test 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

Associé ou non à la norfloxacine, le tinidazole est extrait des comprimés ou des gélules à l'aide d'un volume connu d'acétone et son identité et sa teneur sont ensuite vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM) par rapport à un agent de référence approprié. Pour un contrôle rapide de la qualité de la norfloxacine, se référer au protocole correspondant.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|--|
| 1) Pilon | 13) Cuve chromatographique (récipient de 500 ml) |
| 2) Feuille d'aluminium | 14) Plaque chauffante |
| 3) Entonnoir | 15) Papier filtre |
| 4) Spatule | 16) Paire de ciseaux |
| 5) Bande adhésive | 17) Paire de pincettes |
| 6) Stylo feutre | 18) Lampe UV de 254 nm |
| 7) Crayon et règle gradué | 19) Cuve de révélation à l'iode |
| 8) Fioles de verre de 10 ml | 20) Acétone |
| 9) Kit de pipettes graduées (1 to 25 ml) | 21) Méthanol |
| 10) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 to 100 ml) | 22) Acétate d'éthyle |
| 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F ₂₅₄ taille 5 x 10 cm | 23) Solution d'ammoniaque 25% |
| 12) Tubes capillaire de verre de 2 µl de capacité | 24) Balance de poche électronique |
| | 25) Substance témoin, par exemple le tinidazole en tant que substance pure provenant de sources commerciales |

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 le tinidazole en tant que substance pure d'une grande pureté proche de 100 % obtenue à partir de sources commerciales. A l'aide de la balance de poche électronique fournie, peser correctement environ 0,3 g de poudre de tinidazole pure sur un morceau de papier d'aluminium formant un récipient de pesée. Vider soigneusement la feuille d'aluminium dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml et faire écouler tous les solides résiduels avec 15 ml d'acétone à l'aide d'une pipette graduée. Ajuster la quantité d'acétone lorsque le résultat de la pesée diffère du poids cible. Afin de surmonter l'inertie dynamique de la balance et de garantir des lectures correctes, soulevez le bateau de pesée ou tapotez le



plateau de pesée avec un stylo ou une spatule chaque fois que quelques milligrammes ont été ajoutés ou enlevés. Fermer le flacon de laboratoire et agiter jusqu'à ce que tout le tinidazole soit dissous. La solution obtenue doit contenir 20 mg de tinidazole total par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Stock de Tinidazole*'. Ne préparer cette solution que juste avant chaque test. La solution finale obtenue doit être exempte de solides résiduels observables. De plus amples informations sur l'utilisation de la balance de poche sont disponibles dans la vidéo via le code QR fourni ici.

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 1 ml de la solution du stock dans une fiole de 10 ml et ajouter 4 ml d'acétone. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 4 mg de tinidazole total par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Travail de Tinidazole 100%*'.

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

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

A l'aide des pipettes graduées, introduire 2 ml de la solution témoin du stock dans une fiole de 25 ml et ajouter 10,5 ml d'acétone. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 3,2 mg de tinidazole total par ml et être étiquetée comme '*Solution Témoin du Travail de Tinidazole 80%*'.

Cette solution témoin représente un médicament de basse qualité contenant seulement 80% de la quantité de tinidazole indiquée sur l'étiquette du produit. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en tinidazole 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 A PARTIR D'UN PRODUIT DECLARANT UNE TENEUR DE 250 MG DE TINIDAZOLE A L'UNITE

Prendre un comprimé ou une gélule entière d'un médicament approprié prélevé en magasin ou sur le marché. Comme d'habitude, les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en fine poudre à l'aide d'un pilon. 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 deux parties vides d'enveloppe de gélule à la fin. Pour l'extraction, ajouter 12,5 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.

300 MG DE TINIDAZOLE A L'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 d'acétone à l'aide d'une pipette graduée appropriée et extraire le tinidazole. Poursuivre le travail comme décrit ci-dessus.

400 MG DE TINIDAZOLE A L'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 d'acétone à l'aide d'une pipette graduée appropriée et extraire le tinidazole. Poursuivre le travail comme décrit ci-dessus.

500 MG DE TINIDAZOLE A L'UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 50 ml, ajouter 25 ml d'acétone à l'aide d'une pipette graduée appropriée et extraire le tinidazole. Poursuivre le travail comme décrit ci-dessus.

600 MG DE TINIDAZOLE A L'UNITE

Placer la poudre obtenue à partir d'un échantillon entier de comprimé ou de gélule dans un flacon de verre de laboratoire de 50 ml, ajouter 30 ml d'acétone à l'aide d'une pipette graduée appropriée et extraire le tinidazole. Poursuivre le travail comme décrit ci-dessus.

Qu'elles soient ou non combinées à la norfloxacine, toutes les solutions essai du stock obtenues doivent finalement contenir 20 mg de tinidazole total par ml et être étiquetées comme '*Solution Essai du Stock de Tinidazole*'. 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 4 ml d'acétone. Fermer la fiole, agiter et étiqueter comme '*Solution Essai d'Usage de Tinidazole*'. La concentration attendue de tinidazole dans cette solution essai de travail est de 4 mg par base libre par ml et doit correspondre à la concentration de tinidazole 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 ou combinaisons 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 10 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 appropriées, ajouter 15 ml d'acétate d'éthyle, 5 ml de méthanol, et 0,5 ml de la solution d'ammoniaque 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 14 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 tinidazole, colorer la plaque chromatographique fraîche avec de l'iode.

XI. OBSERVATIONS A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Une tache sombre à une distance de déplacement d'environ 0,61 indique la présence de tinidazole dans la solution de test. Des taches fortes supplémentaires provenant de la solution de test suggèrent la présence d'autres principes actifs ou la dégradation du tinidazole, en particulier si la tache principale est plus petite. Une tache principale plus petite peut également indiquer une faible teneur en tinidazole, tandis que l'absence de tache suggère

CHROMATOGRAMME OBSERVE A LA LUMIERE UV DE 254 NM

Développement n° 1:

Solution témoin supérieure représentant 100% du tinidazole total

Développement n° 2:

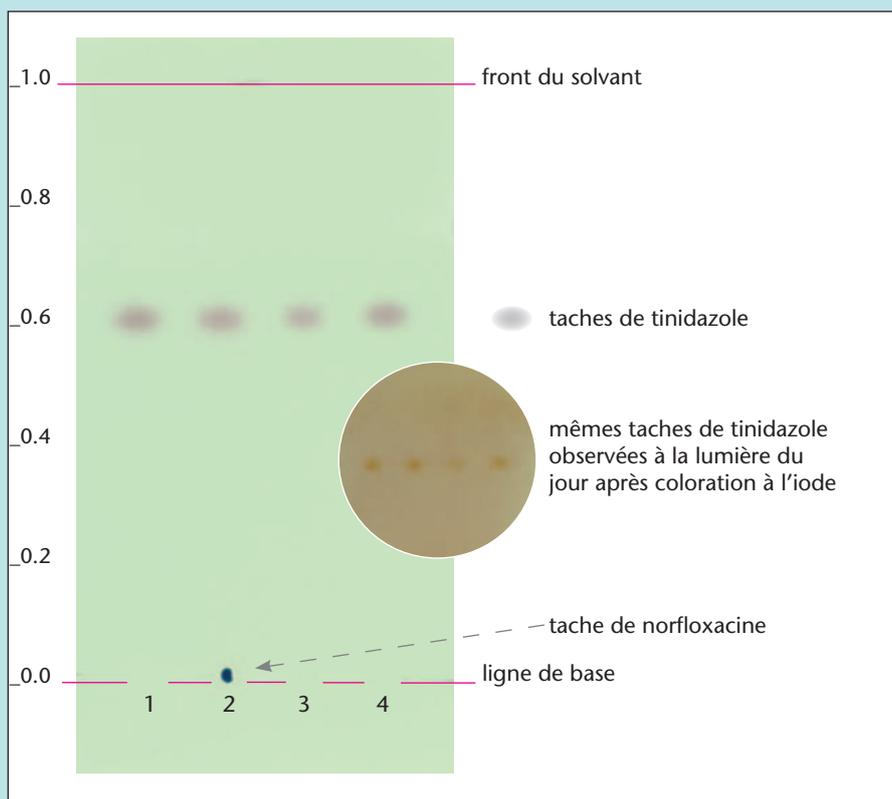
Une association à dose fixe de norfloxacine de bonne qualité avec une teneur acceptable en tinidazole

Développement n° 3:

Une monopréparation de basse qualité à teneur faible inacceptable en tinidazole

Développement n° 4:

Solution témoin inférieure représentant 80% du tinidazole total



l'absence totale de tinidazole. Le métronidazole apparenté présenterait une distance parcourue d'environ 0,51. Si le tinidazole est combiné à la norfloxacine, cette dernière ne bouge pas et se fixe sur la ligne de base. Les agents auxiliaires présents dans différents produits finis peuvent produire des taches faibles, soit près du front du solvant, soit à la ligne de base.

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

Lors de l'exposition du chromatoplate à la vapeur d'iode, toutes les taches de tinidazole déjà observées à 254 nm deviennent brun jaunâtre. Observer également la plaque pendant l'évaporation de l'iode. Les taches reflétant les produits de qualité inférieure disparaissent progressivement en premier, suivies par les taches de référence représentant une teneur en médicament de 80 ou 100 %.

XIII. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La tache de tinidazole 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-cinq ans de travail sur de projet, le GPHF-Minilab™ a fait ses preuves dans plus de 100 pays.

Ce supplément au manuel Minilab élargit la liste actuelle de 119 agents actifs à 125 ingrédients pharmaceutiques actifs au total, en incluant désormais les médicaments palliatifs dans les soins auto-administrés.

La liste finale de 125 principes pharmaceutiques actifs pour la vérification rapide de la qualité d'une large gamme de produits pharmaceutiques finis est complétée par un test de chromatographie sur couche mince pour la vérification simple et rapide des agents antigel, du diéthylène glycol et de l'éthylène glycol dans les sirops et autres préparations liquides à usage oral.

