

Manual

Accompagnant le GPHF-Minilab®

Supplément 2012

Volume II

TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE



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



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

SUPPLÉMENT 2012 AU VOLUME II DES TESTS DE CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Rédigé par

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

* * *

Revu par

Adrian Barojas, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Kennedy Chibwe, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, Mustapha Hajjou, Lukas Roth et Patrick Lukulay

* * *

Publié par

le Global Pharma Health Fund (GPHF), une organisation caritative créée et soutenue par Merck Darmstadt · Allemagne, et le programme Promoting the Quality of Medicines (PQM) de la United States Pharmacopeia (USP)

* * *

Copyright © GPHF & USP PQM

* * *

Remerciements

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

* * *

Le projet GPHF-Minilab®

La prolifération des médicaments contrefaits constitue un danger sérieux pour la santé. L'organisation internationale de police criminelle (Interpol) estime qu'une proportion inquiétante de dix à trente pour cent de tous les médicaments distribués dans les pays en voie de développement est soit contrefaite, ou présente à la base une qualité insuffisante. Le combat des contrefaçons a pour but d'assurer que les investissements réalisés dans les programmes de santé pendant plusieurs décennies ne sont pas anéantis par manque de vigilance.

Afin de lutter contre les médicaments anti-infectieux contrefaits ou de qualité très médiocre infiltrant les organisations d'approvisionnement en médicaments et les programmes prioritaires de traitement des maladies dans les pays à paludisme, tuberculose et VIH/SIDA endémiques, le Global Pharma Health Fund (GPHF) à Francfort, une organisation caritative exclusivement soutenue par Merck, Darmstadt · Allemagne, a développé et organisé la distribution à coût modéré du GPHF-Minilab®, un mini-laboratoire destiné à une vérification rapide de la qualité des médicaments et à la détection de produits pharmaceutiques contrefaits.

Depuis de nombreuses années, les GPHF-Minilabs agissent en tant que défense de première ligne dans le combat contre les médicaments contrefaits et de qualité substandard menaçant la santé de millions d'individus vivant dans les pays en voie de développement. Dans le monde entier, plus de 500 Minilabs ont déjà été fournis dans 80 pays à travers les régions d'Afrique, d'Asie-Pacifique et d'Amérique latine.

Les institutions gouvernementales de la santé publique et les agences nationales de la sécurité des médicaments en coopération avec l'Organisation Mondiale de la Santé et le programme Promoting the Quality of Medicines (PQM) de la U.S. Pharmacopeia (USP) représentent les principaux partenaires actifs. Ces dernières années, des projets communs de contrôle de qualité des médicaments, mis en place en Asie du sud-est et en Afrique orientale ont permis la saisie par Interpol de millions de comprimés antipaludiques contrefaits ne contenant aucun principe actif.

Un besoin durable de contrôle de qualité des médicaments, simple et de coût abordable dans les pays à bas revenus, constitue un des moteurs principaux dans la mise au point de nouveaux protocoles de tests pour le GPHF-Minilab®. La nécessité de l'utilisation de tests à travers le monde entier souligne l'importance de l'intense collaboration avec nos partenaires actifs aux Etats-Unis. Pour une plus grande sécurité des patients et une meilleure situation sanitaire dans les pays en voie de développement, d'autres partenaires sont invités à se joindre à nous.

* * *

Réalisé par Grimm Graphic Design, Ochsenfurt, Allemagne

Table des Matières

Chapitre	Page
Nouvelles procédures individuelles de tests chromatographiques.....	4
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 6</i>	
<i>Médicaments antipaludéens de combinaison à dose fixe, à base d'artésunate</i>	
6.58 Artésunate (y compris les formules combinées communes).....	4
6.59 Amodiaquine (y compris les formules combinées d'artésunate).....	8
6.60 Méfloquine (y compris les formules combinées d'artésunate).....	12
6.61 Pyriméthamine (y compris les formules combinées des sulfonamides et d'artésunate).....	16
6.62 Pyronaridine (en forme de tétraphosphate incluant les formules combinées d'artésunate)	20
6.63 Sulfadoxine (y compris les formules combinées de pyriméthamine et d'artésunate).....	24
6.64 Sulfaméthoxyypyrazine (y compris les formules combinées de pyriméthamine et d'artésunate).....	28
Tableau synoptique des procédures de test chromatographiques.....	32
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 7</i>	
Liste actualisée des substances témoin du GPHF-Minilab®	33
<i>Supplément au Volume II, Chapitre 10</i>	
Santé & Sécurité.....	35

6.58 Artésunate (y compris les formules combinées communes)

Examen Primaire du Médicament via Inspection Physique & Test de Désintégration

I. INSPECTION PHYSIQUE

Chercher les anomalies d'étiquetage, d'emballage et de forme galénique, comme il est décrit dans les chapitres d'entrée concernant les méthodes et les procédés généraux du manuel principal. Inscrire toutes les caractéristiques de produit en utilisant le formulaire de rapport en tant que guide. Administrée au début en tant que médicament à dose unique, la thérapie de combinaison à dose fixe à base d'artésunate est beaucoup plus répandue aujourd'hui. Les comprimés ou gélules appropriés contiennent en général l'artésunate d'un côté et l'amodiaquine, la méfloquine, la pyronaridine, la pyriméthamine, la sulfadoxine ou la sulfaméthoxy-pyrazine de l'autre côté; la proportion d'artésunate se présente le plus souvent en dosage de 25 à 200 mg.

II. TEST DE DESINTEGRATION

Combinés ou non à d'autres agents antipaludéens, tous les comprimés et gélules d'artésunate à libération rapide doivent réussir le test de désintégration tel qu'il est décrit dans les chapitres d'entrée concernant les méthodes et les procédés généraux du manuel principal. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37 °C en moins de 30 minutes. Dans le cas contraire, le produit présente une anomalie majeure.

III. RESULTATS & MESURES A PRENDRE

Les produits pharmaceutiques particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement manquent ou sont incorrects, à formule médicamenteuse erronée ou à emballage défectueux, à étiquettes incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées en langue étrangère, doivent être soumis à un essai de chromatographie sur couche mince.

Vérification de l'Identité et de la Teneur en Substance Active via le Test de CCM

I. PRINCIPE

Combiné ou non à d'autres agents antipaludéens, l'artésunate est extrait des comprimés et gélules à l'aide de méthanol et déterminé par chromatographie sur couche mince (CCM) en référence à une substance témoin. Les procédures présentées dans ce protocole sont adaptées à la détection d'artésunate dans tous les produits combinés à d'autres agents antipaludéens communs et les formules uniques en forme solide pour administration orale. Pour une vérification rapide de la qualité du médicament concernant les proportions de méfloquine, amodiaquine, pyronaridine, pyriméthamine, sulfadoxine ou sulfaméthoxy-pyrazine en formules combinées d'artésunate, consultez les différents protocoles de ce supplément.

II. EQUIPEMENT ET REACTIFS

- | | |
|--|---|
| 1) Pilon | 12) Cuve chromatographique (répétition de 500-ml) |
| 2) Feuille d'aluminium | 13) Plaque chauffante |
| 3) Entonnoir | 14) Papier filtre |
| 4) Bande adhésive | 15) Paire de ciseaux |
| 5) Stylo feutre | 16) Paire de pincettes |
| 6) Crayon et règle graduée | 17) Lampe UV de 254 nm |
| 7) Fioles de verre de 10 ml | 18) Cuve d'immersion (bêcher de 250 ml) |
| 8) Kit de pipettes graduées (1 à 25 ml) | 19) Acide sulfurique concentré (96%) |
| 9) Kit de flacons de verre de laboratoire (25 à 100 ml) | 20) Acétone |
| 10) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites au gel de silice 60 F ₂₅₄ , taille 5x10 cm | 21) Acétate d'éthyle |
| 11) Tubes capillaires de verre (2-µl de capacité) | 22) Acide acétique anhydre |
| | 23) Méthanol |
| | 24) Substance témoin, des comprimés d'artésunate de 50 mg par exemple |

<p>III. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN DU STOCK</p>	<p>Pour la préparation de la solution témoin du stock, il faut un étalon de référence, des comprimés contenant 50 mg d'artésunate, par exemple. Envelopper un comprimé de référence dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre en utilisant un pilon. Verser avec précaution le contenu de la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de verre de laboratoire de 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 et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plus grande partie des solides. Laisser reposer pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 5 mg d'artésunate total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin du Stock d'Artésunate'. Ne préparer cette solution que juste avant la réalisation du test. Continuer à travailler avec le liquide clair ou trouble.</p>
<p>IV. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 100% (LIMITE SUPERIEURE)</p>	<p>La solution témoin du stock ne nécessite pas de dilution supplémentaire. Elle constitue déjà la concentration de travail finale de 5 mg d'artésunate total par ml. Pour une manipulation plus aisée toutefois, une partie du liquide de surface peut être transféré dans une fiole de 10 ml.</p> <p>Cette solution témoin d'usage supérieure constitue un médicament de bonne qualité contenant 100 % d'artésunate.</p>
<p>V. PREPARATION DE LA SOLUTION TEMOIN D'USAGE 80% (LIMITE 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 d'artésunate total par ml et être étiquetée en tant que 'Solution Témoin d'Usage d'Artésunate 80%'.</p> <p>Cette solution témoin d'usage inférieure constitue un produit de moindre qualité contenant seulement 80% de la quantité d'artésunate comme l'indique l'étiquette du médicament. Dans la recherche présente, ce niveau de teneur en substance active représente la limite la plus basse acceptable pour un produit pharmaceutique approprié.</p>
<p>VI. PREPARATION D'UNE SOLUTION ESSAI DU STOCK A PARTIR D'UN COMPRIME OU D'UNE GELULE DECLARANT UNE TENEUR EN ARTESUNATE DE 25 MG A L'UNITE</p> <p>50 MG D'ARTESUNATE A L'UNITE</p> <p>60 MG D'ARTESUNATE A L'UNITE</p> <p>100 MG D'ARTESUNATE A L'UNITE</p> <p>200 MG D'ARTESUNATE A L'UNITE</p>	<p>Prendre deux (!) gélules ou comprimés entiers d'un produit pharmaceutique approprié, acquis en magasin ou sur le marché. Comme à l'habitude, envelopper les comprimés dans une feuille d'aluminium et les broyer finement. Introduire toute la poudre obtenue dans un flacon de verre de laboratoire de 25 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans le flacon, ainsi que les deux parties de l'enveloppe de gélule. Pour l'extraction, ajouter 10 ml de méthanol en utilisant une pipette graduée, fermer ensuite le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des solides. Laisser reposer la solution pendant cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon.</p> <p>Prendre un comprimé ou une gélule complets et procéder à l'extraction de la substance active à partir de la poudre obtenue à l'aide de 10 ml de méthanol suivant la méthode indiquée ci-dessus.</p> <p>Prendre un comprimé ou une gélule complets et procéder à l'extraction de la substance active à partir de la poudre obtenue à l'aide de 12 ml de méthanol suivant la méthode indiquée ci-dessus.</p> <p>Prendre un comprimé ou une gélule complets et procéder à l'extraction de la substance active à partir de la poudre obtenue à l'aide de 20 ml de méthanol suivant la méthode indiquée ci-dessus.</p> <p>Prendre un comprimé ou une gélule complets et procéder à l'extraction de la substance active à partir de la poudre obtenue à l'aide de 40 ml de méthanol suivant la méthode indiquée ci-dessus.</p> <p>Combinées ou non à d'autres agents antipaludéens, toutes les solutions essai du stock produites doivent contenir finalement 5 mg d'artésunate total par ml et être étiquetées en tant que 'Solution Essai du Stock d'Artésunate'. Ne préparer ces solutions que juste avant la réalisation du test. Continuer à travailler avec les liquides clairs ou troubles.</p>

VII. PREPARATION DE LA SOLUTION ESSAI D'USAGE

Les solutions témoin du stock ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Elles constituent déjà la concentration de travail finale de 5 mg d'artésunate total par ml. Quand elles sont préparées à partir d'un produit de qualité supérieure, la solution d'échantillon doit correspondre à la concentration d'artésunate de la solution témoin d'usage supérieure produite ci-dessus.

VIII. DEPOT D'ECHANTILLON

Tracer une ligne de base parallèle et à environ 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaque CCM et déposer 2 µl de chaque solution essai et témoin comme le présente la page ci-contre, en utilisant les tubes capillaires fournis.

Il est possible de déposer jusqu'à cinq échantillons sur une plaque. Contrôler l'uniformité de tous les dépôts sous une lampe UV de 254 nm. Même si l'artésunate lui-même reste invisible, les excipients et autres composants du médicament apparaissent, facilitant ainsi la vérification. Tous les dépôts doivent être ronds de forme et également répartis sur la ligne de base. Bien qu'ils puissent différer en intensité, ils ne doivent jamais différer en diamètre. Des intensités différentes sont dues aux quantités résiduelles d'excipients de comprimés ou de gélules ou à différentes concentrations de substance active dans les solutions d'échantillons. Une différence dans la taille de la tache cependant, est due à un mauvais dépôt. Répéter cette étape si les dépôts ne présentent pas de forme homogène la première fois.

IX. DEVELOPPEMENT DU CHROMATOGRAMME

A l'aide des pipettes graduées, introduire 18 ml d'acétate d'éthyle, 4 ml d'acétone et exactement 0,1 ml d'acide acétique anhydre dans le récipient utilisé en tant que cuve chromatographique. Fermer la cuve et mélanger fermement. Border les parois de la cuve avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes afin d'assurer la saturation de la cuve par les vapeurs de solvant. Déposer avec précaution la plaque CCM chargée dans la cuve. Fermer la cuve et réaliser le développement de la chromatoplaque jusqu'à ce que la ligne de front du solvant se soit déplacée sur une longueur de trois-quart de la plaque; la durée du développement est de 10 minutes environ. Retirer la plaque de la cuve, marquer la ligne de front du solvant et faire évaporer tout résidu de solvant à l'aide d'une plaque chauffante, si nécessaire.

X. REVELATION DES TACHES

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

Après vérification de la présence ou l'absence d'autres composants actifs, exposer la chromatoplaque à la coloration à l'acide sulfurique en vue de détecter l'artésunate. Remplir à cet effet le bécher de plastique de 250 ml fourni de 190 ml de méthanol, puis de 10 ml de solution d'acide sulfurique concentrée et agiter doucement. Laisser refroidir le mélange et immerger la chromatoplaque dans la solution de coloration en utilisant une paire de pincettes. Retirer immédiatement la plaque de la solution de coloration et faire écouler le surplus de liquide sur un tissu de papier. Essuyer le liquide résiduel au dos de la plaque et continuer à sécher toute la solution de coloration sur la plaque chauffante fournie. Au cours du réchauffement, toutes les taches d'artésunate apparaissent progressivement à la lumière du jour. Utiliser cette méthode de détection à la fois pour l'identification de l'artésunate et à des fins quantitatives. Noter que l'opération de coloration est illustrée à la page 26 du manuel principal édité en 2008.

Après la coloration à l'acide sulfurique et à la chaleur, une détection d'autres substances actives dans des produits d'artésunate en formules combinées, méfloquine par exemple, peut être réalisée par exposition de la plaque à la lumière UV de 366 nm dans une pièce de travail sombre.

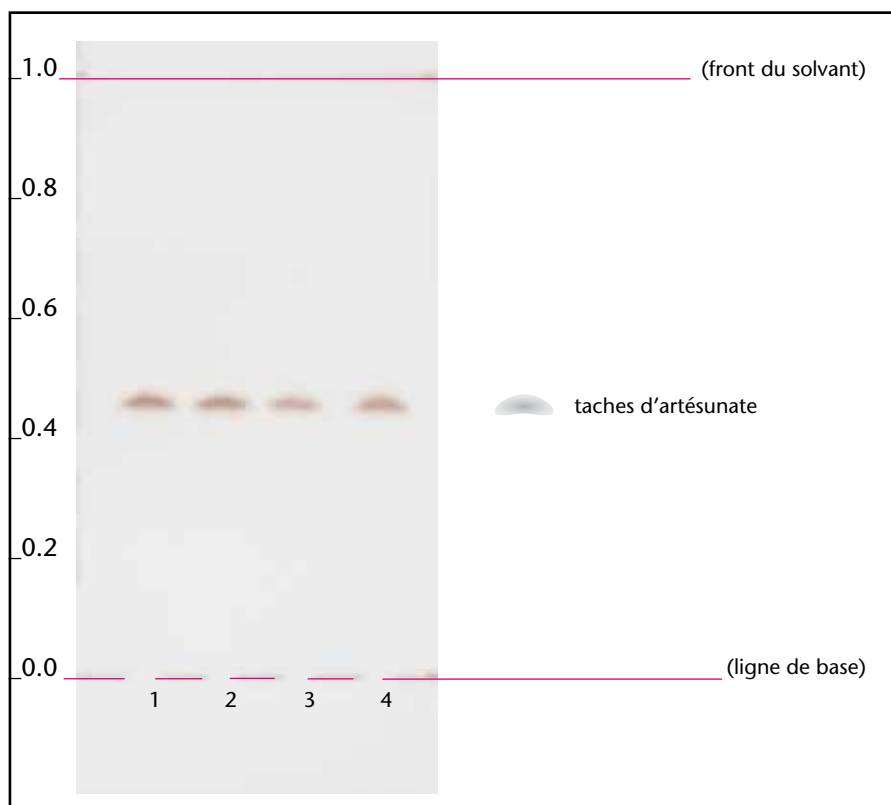
XI. CHROMATOPLAQUE OBSERVEE A LA LUMIERE DU JOUR APRES COLORATION A L'ACIDE SULFURIQUE

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

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

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

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



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

L'artésunate reste invisible et aucune autre tache ne doit être révélée à moins que le médicament à l'examen ne soit un produit en formule combinée contenant aussi des substances actives visibles aux rayons UV, la sulfadoxine et la sulfaméthoxyypyrazine, par exemple; ces deux substances présentent des distances de déplacement comparables de 0,57 env. D'autres substances provenant de formules combinées (amodiaquine, méfloquine, pyronanidine, pyriméthamine) et quelques excipients inclus aux différentes formules de comprimés ou gélules peuvent causer la formation de taches apparaissant près de la ligne de base ou sur celle-ci.

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

Une tache marron foncé à une distance d'environ 0,46 indique la présence d'artésunate dans la solution essai. A ce stade, aucune autre substance active de formule combinée commune n'apparaîtra. Des taches foncées supplémentaires générées par la solution de test indiquent la présence d'autres substances actives ou une dégradation d'artésunate. Ce dernier cas est plus probable lorsque la tache est associée à une tache principale plus petite. D'autres agents antipaludéens, l'amodiaquine ou la méfloquine, par exemple, provenant de formules combinées ou quelques excipients inclus aux différentes formules de comprimés ou gélules peuvent causer la formation de taches apparaissant près de la ligne de base ou sur celle-ci.

XIV. RESULTATS & MESURES A PRENDRE

La tache d'artésunate dans le chromatogramme obtenue avec la solution essai doit correspondre en termes de couleur, de taille, d'intensité, de forme et de distance parcourue à la tache du chromatogramme obtenue avec la solution témoin supérieure et inférieure. On doit parvenir à ce résultat pour chaque méthode de révélation. Si ce n'est pas le cas, répéter le développement depuis le début avec un deuxième échantillon. Rejeter le lot si la teneur en substance active ne peut être constatée après un troisième développement. Transmettre des échantillons supplémentaires à un laboratoire de contrôle de médicaments entièrement équipé afin d'obtenir un deuxième jugement. Garder des échantillons et placer le lot en quarantaine jusqu'à la prise d'une décision définitive de rejet ou de mise en circulation des médicaments. A des fins de documentation, prendre des photos des différentes lectures avec un appareil-photo numérique; éteindre d'abord le flash.

Véritable ou contrefait?



Lutter contre les médicaments contrefaits · Protéger la vie



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

Global Pharma Health Fund
Frankfurt, Allemagne
Tél. +49-69-46939-662
Fax +49-69-46939-852
info@gphf.org · www.gphf.org



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

**U.S. Agency for
International Development**
Office of Health, Infectious Diseases
and Nutrition, Ronald Reagan Bldg.,
1300 Pennsylvania Avenue NW
Washington, DC 20523-3700, USA
Phone +1-202-712-4789
Fax +1-202-216-3702
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov

United States Pharmacopeia
Promoting the Quality
of Medicines program
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790, USA
Phone +1-301-816-8162
Fax +1-301-816-8374
pqm@usp.org · www.pqmusp.org