

Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab®

**Extension 2002
Dix nouveaux
médicaments**

Second Supplément au Volume II
Chromatographie en Couche Mince



Une initiative des Compagnies Pharmaceutiques Allemandes dans le domaine de la recherche

Table des matières

Chapitre

Page

Avant-propos

1	Procédures d'Opérations Individuelles Standard 5	
	<i>Supplément au Volume II, Chapitre 7</i>	
7.21	Artésunate 6	
7.22	Céfalexine 10	
7.23	Ciprofloxacine 14	
7.24	Éthambutol - y compris combinaisons fixes avec rifampicine, isoniazide & rifampicine 18	
7.25	Glibenclamide 22	
7.26	Griséofulvine 26	
7.27	Méfloquine 30	
7.28	Pyrazinamide - y compris combinaisons fixes avec rifampicine, isoniazide & éthambutol 34	
7.29	Quinine - y compris tous les dosages courants oraux et parentéraux et les formules salines 38	
7.30	Salbutamol 42	
2	Récapitulatif des Conditions de Travail de Chromatographie 46	
	<i>Supplément au Volume II, Chapitre 8</i>	
3	Liste Actualisée d'Articles Inventaires du Minilab 47	
	<i>Supplément au Volume II, Chapitre 10</i>	
4	Consignes de Santé & de Sécurité 50	

7.21 Artésunate

Premier Contrôle via Inspection Visuelle & Test de Désintégration

I. INSPECTION VISUELLE

Rechercher les défauts dans l'étiquetage, l'emballage et la contenance comme il est décrit dans les premiers chapitres concernant les méthodes générales et opérations du manuel principal.

Relever toutes les caractéristiques de produit à l'aide du Formulaire de Rapport. Chaque comprimé ou gélule contient normalement 50 à 200 mg d'artésunate.

II. TEST DE DÉSINTÉGRATION

Tous les comprimés et gélules d'artésunate à libération rapide doivent réussir le test de désintégration comme il est décrit aux premiers chapitres des méthodes générales et opérations du manuel principal. Ils doivent se désintégrer dans l'eau à 37°C en moins de 30 minutes. Si le test n'est pas concluant, le médicament présente un défaut majeur.

III. RÉSULTATS ET MESURES À PRENDRE

Les produits pharmaceutiques particulièrement bon marché, les produits pharmaceutiques dont les documents d'accompagnement manquent ou sont incorrects et les produits pharmaceutiques à forme de contenance ou emballages défectueux, à étiquettes incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées en langue étrangère, doivent être soumis à un test de chromatographie.

Vérification d'Identité et de Contenu de Médicament via Chromatographie

I. PRINCIPE

L'artésunate est extrait des comprimés et gélules à l'aide de méthanol et déterminé par chromatographie en couche mince (CCM) avec référence à un médicament authentique standard.

II. MATERIEL ET RÉACTIFS

- 1) Pilon
- 2) Feuille d'aluminium
- 3) Flacons de verre de laboratoire d'une contenance de 25 à 100 ml
- 4) Entonnoir
- 5) Kit de pipettes droites (1 à 25 ml)
- 6) Fioles de 10 ml
- 7) Bande à étiquettes
- 8) Marqueur
- 9) Crayon
- 10) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites de gel de silice 60 F 254, taille 5 x 10 cm
- 11) Microcapillaires de verre d'une contenance de 2µl
- 12) Plaque chaude
- 13) Chambre de développement CCM (bocal)
- 14) Papier filtre
- 15) Paire de ciseaux
- 16) Paire de pincettes
- 17) Lampe à UV de 254 nm
- 18) Chambre iodée
- 19) Chambre de trempage CCM
- 20) Méthanol
- 21) Acide sulfurique 96%
- 22) Acide acétique glacé
- 23) Acétate d'éthyle
- 24) Acétone
- 25) Comprimés de référence Artésunate 50 mg

III. PRÉPARATION DE LA SOLUTION STANDARD DE BASE

Pour la préparation de la solution standard, il faut un comprimé entier de référence contenant 50 mg d'artésunate que l'on écrase avant de procéder à l'extraction, la procédure exacte étant la suivante : envelopper un comprimé dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Vider la feuille d'aluminium au-dessus d'un flacon de verre de laboratoire de 25 ml et rincer tous les résidus solides à l'aide de 10,0 ml de méthanol en utilisant une pipette droite. Refermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plus grande partie de matière solide. Laisser reposer la solution pendant cinq minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au-dessous du liquide trouble de surface. La solution doit contenir 5,0 mg de médicament complet par ml et être étiquetée en tant que « *Solution Standard de base d'Artésunate* ». Préparer cette solution à nouveau juste avant chaque test.

IV. PRÉPARATION DE LA SOLUTION STANDARD DE TRAVAIL 100% (LIMITE SUPÉRIEURE DE TRAVAIL)

La solution standard d'artésunate ne nécessite pas de dilution supplémentaire. Elle représente déjà la concentration finale de travail de 5,0 mg de médicament complet par ml.

Cette solution standard de travail constitue un produit pharmaceutique de bonne qualité contenant 100% d'artésunate.

V. PRÉPARATION DE LA SOLUTION STANDARD DE TRAVAIL 80% (LIMITE INFÉRIEURE DE TRAVAIL)

Introduire 4 ml de la solution standard de base dans une fiole de 10 ml et ajouter 1 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 4,0 mg de médicament total par ml et être étiquetée en tant que « *Solution Standard de travail d'Artésunate 80%* »

Cette solution standard inférieure de travail constitue un produit pharmaceutique de qualité médiocre contenant seulement 80% de la quantité d'artésunate, comme indiquée sur l'étiquette de produit. Dans la recherche présente, ce type de médicament représente la limite inférieure acceptable pour un produit donné.

VI. PRÉPARATION DE LA SOLUTION D'ÉCHANTILLON DE BASE D'UN PRODUIT PHARMACEUTIQUE EXIGEANT UNE POTENCE DE 50 MG D'ARTÉSUNATE PAR UNITÉ

Pour la préparation d'une solution d'échantillon de base, il faut un comprimé ou gélule entier(e) d'un produit pharmaceutique prélevé sur le terrain. L'artésunate est entièrement extrait de l'échantillon à l'aide de la même procédure que pour le médicament standard de référence : les comprimés sont enveloppés dans une feuille d'aluminium et réduits en poudre fine avant d'être introduits dans un flacon de laboratoire de verre de 25 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans le flacon de laboratoire de verre avec enfin les deux parties de l'enveloppe de gélule. Ajouter 10 ml de méthanol à l'aide d'une pipette droite, fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plus grande partie des matières solides. Laisser reposer la solution cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au-dessous du liquide trouble de surface.

200 MG D' ARTÉSUNATE PAR UNITÉ

Introduire la poudre obtenue dans un flacon de 50 ml, ajouter 40 ml de méthanol à l'aide d'une pipette droite, refermer le flacon et agiter environ trois minutes jusqu'à dissolution de la plus grande partie des matières solides. Laisser reposer la solution cinq autres minutes jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au-dessous du liquide trouble de surface.

Les deux solutions obtenues doivent contenir 5,0 mg de médicament total par ml et être étiquetées en tant que « *Solution d'Echantillon de Base d'Artésunate* ». Préparer à nouveau ces solutions avant chaque test.

VII. PRÉPARATION DE LA SOLUTION D'ÉCHANTILLON DE TRAVAIL

Les solutions d'échantillon de base Artésunate préparées à partir d'une unité de dosage de 50 ou 200 mg, ne nécessitent pas d'autre dilution. Elles constituent toujours la concentration de travail finale de 5,0 mg de médicament total par ml.

VIII. APPLICATION DES TACHES

Tracer une ligne d'origine parallèle et à 1,5 cm de l'extrémité inférieure de la plaquette et appliquer 2 μ l de chaque test et solutions préparés comme indiqué sur la figure ci-contre à l'aide des pipettes microcapillaires fournies.

Il est possible d'appliquer jusqu'à cinq taches sur la plaquette. Contrôler l'uniformité de toutes les taches à l'aide de la lampe UV de 254 nm. Même si les agents actifs ne sont pas visibles aux UV, les agents auxiliaires résiduels de la gélule ou du comprimé le sont. Toutes les taches doivent être de forme arrondie et réparties à égale distance sur la ligne d'origine. Même si leur intensité diffère, le diamètre doit être le même. Des intensités différentes sont dues à des quantités résiduelles d'excipients de comprimé ou de gélules ou à des concentrations de médicament différentes dans les solutions d'échantillon. Une différence dans la taille de la tache cependant, indique une application incorrecte de taches. Répéter cette étape si une application homogène n'est pas réussie la première fois.

IX. DÉVELOPPEMENT

A l'aide de la pipette, introduire 18 ml d'acétate d'éthyle, 4 ml d'acétone et précisément 0,1 ml d'acide acétique glacé dans le bocal utilisé en tant que chambre de développement CCM. Fermer la chambre et mélanger complètement. Border la paroi de la chambre de mélange à l'aide de papier filtre et attendre environ 15 minutes de façon à assurer la saturation de la chambre par les vapeurs de solvant. Placer avec précaution la plaquette CCM préparée dans le bocal. Fermer le bocal et laisser la plaquette se développer jusqu'à ce que le solvant se soit déplacé aux trois-quarts environ de la longueur de la plaquette; la durée de développement étant de 15 minutes à peu près. Oter la plaquette de la chambre, marquer la ligne avant de solvant et faire évaporer tout excès de solvant en utilisant une plaque chaude, si nécessaire.

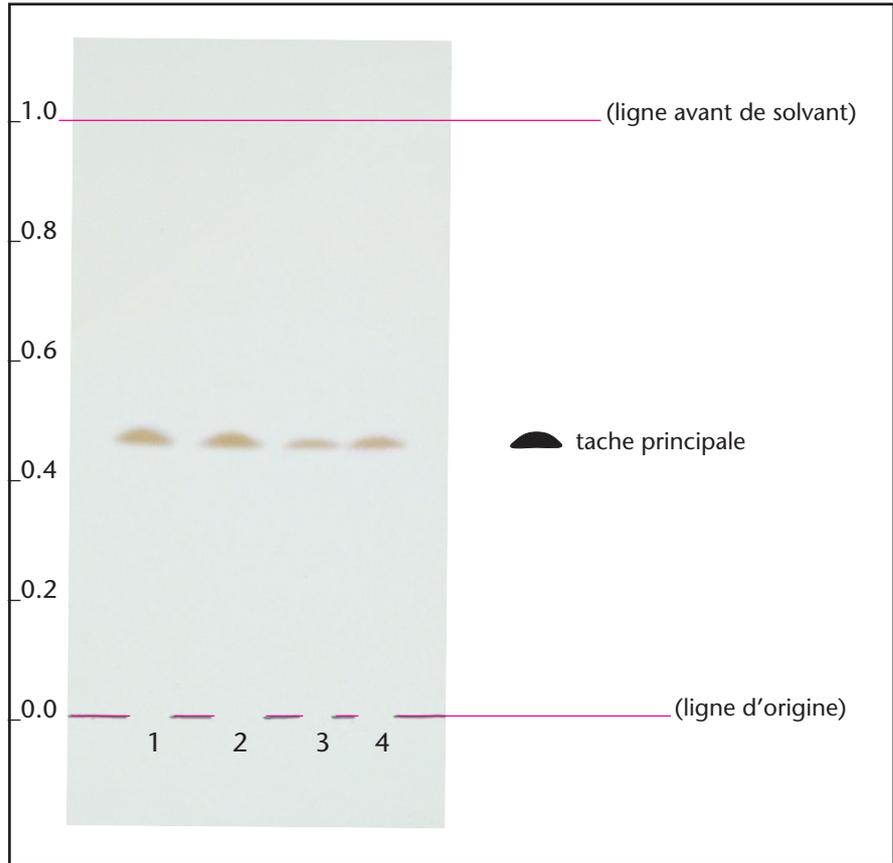
X. DÉTECTION

Sécher tous les résidus de solvant et soumettre la plaquette CCM à une solution d'acide sulfurique de méthanol à 5%. Mélanger à cet effet 19 ml de méthanol avec 1 ml d'acide sulfurique à 96% dans la chambre de trempage fournie et faire entrer la plaquette au contact de la solution de développement en la plongeant rapidement dans la solution d'acide sulfurique à l'aide d'une paire de pincettes. La retirer immédiatement et essuyer le dos avec du papier tissu. Poursuivre en séchant toute la solution de développement au-dessus d'une plaque chaude et observer la façon dont les tâches principales apparaissent progressivement à la lumière du jour. Ne pas laisser passer plus de 15 secondes depuis l'opération de trempage au séchage. Utiliser cette méthode de détection à des fins quantitatives.

Il est possible aussi de sécher tous les résidus de solvants et d'exposer la plaquette CCM à la vapeur d'iode pendant une minute environ. Observer la chromatoplaquette à la lumière du jour pendant et après la coloration à l'iode. Remarque : les tâches principales n'apparaissent que si la chambre d'iode a été correctement activée.

XI. CHROMATOPLAQUETTE OBSERVÉE APRÈS EXPOSITION À L'ACIDE SULFURIQUE

- Dvpt. N°1 :
Limite de travail supérieure d'artésunate représentant 100% du médicament total
- Dvpt. N°2 :
Un produit pharmaceutique de bonne qualité
- Dvpt. N°3 :
Un produit pharmaceutique de qualité médiocre
- Dvpt N°4 :
Limite inférieure de travail d'artésunate représentant 80% du médicament total.



XII. OBSERVATIONS À LA LUMIÈRE DU JOUR APRÈS COLORATION À L'ACIDE SULFURIQUE

La présence d'artésunate est indiquée par une tache forte sombre à une distance de déplacement d'environ 0,45. D'autres taches fortes générées par la solution de test indiquent une dégradation de médicament, surtout si elles sont associées à une petite tache principale. Quelques taches plus faibles apparaissant près ou sur la ligne d'origine de la plaquette sont dues normalement aux agents auxiliaires contenus dans les différentes formules de comprimés et gélules.

XIII. OBSERVATIONS À LA LUMIÈRE DU JOUR APRÈS COLORATION À L'IODE

Lorsque la plaquette est exposée à la vapeur iodée, plusieurs taches brun-orange apparaissent, présentant un modèle de taches comparable à celui de la plaquette déjà observé lors de l'exposition à l'acide sulfurique. Il s'agit d'une méthode alternative permettant d'évaluer la présence quantitative d'artésunate.

XIV. RÉSULTATS & MESURES À PRENDRE

La tache principale du chromatogramme obtenue avec la solution de test doit correspondre en termes de couleur, taille, intensité, forme et distance de déplacement à la tache obtenue dans le chromatogramme avec la solution standard inférieure et supérieure. Ce résultat doit être atteint pour chaque méthode de détection. Si ce n'est pas le cas, répéter le développement à l'aide d'un second échantillon. Afin de procéder à une deuxième évaluation, transmettre les échantillons supplémentaires à un laboratoire de contrôle de médicaments entièrement équipé. Garder les échantillons et placer le lot en quarantaine jusqu'à la prise d'une décision finale concernant le rejet ou l'acceptation des médicaments.