

Manuel

Accompagnant le GPHF-Minilab®

**Extension 2003
Antirétroviraux**

Troisième Supplément au Volume II
Chromatographie en Couche Mince



Une initiative des Compagnies Pharmaceutiques de Recherche en Allemagne

7.34 Nevirapine - y compris les combinaisons fixes avec lamivudine et stavudine

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 contient normalement 200 mg de névirapine. Les produits à combinaisons fixes avec d'autres antirétroviraux, par exemple lamivudine et stavudine sont de plus en plus répandus. D'autre part, des suspensions pour une administration orale sont généralement disponibles en formules de 10 mg de névirapine par millilitre.

II. TEST DE DÉSINTÉGRATION

Tous les comprimés de névirapine 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 formes de contenance ou emballages défectueux ou à étiquettes incomplètes, endommagées, manquantes ou rédigées en langue étrangère, doivent être soumis à un essai de chromatographie en couche mince.

Vérification d'Identité et de Contenu de Médicament via la Chromatographie en Couche Mince

I. PRINCIPE

Les suspensions de névirapine sont diluées et celle-ci est extraite des comprimés et gélules avec de l'eau et déterminée par chromatographie en couche mince (CCM) en référence à un médicament authentique standard.

II. MATERIEL ET REACTIFS

- 1) Pilon
- 2) Spatule
- 3) Feuille d'aluminium
- 4) Flacons de verre de laboratoire d'une contenance de 25 à 100
- 5) Entonnoir
- 6) Kit de pipettes droites (1 à 25 ml)
- 7) Fioles 10 ml
- 8) Etiquettes adhésives
- 9) Marqueur
- 10) Crayon
- 11) Plaques d'aluminium CCM Merck pré-enduites de gel de silice 60F254, taille 5x10 cm
- 12) Microcapillaires de verre d'une contenance de 2- μ l
- 13) Plaque chaude
- 14) Chambre de développement CCM (bocal)
- 15) Papier filtre
- 16) Paire de ciseaux
- 17) Paire de pincettes
- 18) Lampe à rayons UV de 254 nm
- 19) Chambre iodée
- 20) Papier test indicateur pH
- 21) Solution d'acide chlorhydrique 36%
- 22) Eau
- 23) Méthanol
- 24) Acétate d'éthyle
- 25) Toluène
- 26) Médicament de référence authentique, par exemple comprimés de névirapine 200 mg.

III. PREPARATION D'UNE SOLUTION STANDARD DE BASE

La préparation d'une solution standard de base nécessite un produit authentique à des fins de référence, par exemple un comprimé contenant 200 mg de névirapine. Envelopper le comprimé dans une feuille d'aluminium et le réduire en fine poudre à l'aide d'un pilon. Vider le contenu de la feuille dans un flacon de verre de laboratoire de 50 ml et rincer les résidus solides à l'aide de 40 ml d'eau en utilisant une pipette droite. Acidifier au-dessous de pH 3 avec 3 gouttes d'acide chlorhydrique concentré en utilisant une pipette de transfert et vérifier l'acidité à l'aide du papier indicateur pH fourni. Fermer le flacon et agiter pendant 3 minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des parties solides. Laisser reposer la solution pendant 5 minutes encore et attendre que les résidus non dissous se déposent au fond du flacon. La solution obtenue doit contenir 5,0 mg de médicament total par ml et être étiquetée en tant que «*Solution Standard de Base de Névirapine*». Préparer cette solution juste avant chaque test. Continuer à travailler avec le liquide trouble de surface.

IV. PREPARATION D'UNE SOLUTION STANDARD DE TRAVAIL 100% (LIMITE SUPERIEURE DE TRAVAIL)

A l'aide d'une pipette droite, introduire 1 ml de la solution standard de base dans une fiole de 10 ml et ajouter 3 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 1,25 mg de médicament total par ml et être étiquetée en tant que «*Solution Standard de Travail de Névirapine 100%*».

Cette solution standard de travail supérieure représente un produit médical de bonne qualité contenant 100% de névirapine.

V. PREPARATION D'UNE SOLUTION STANDARD DE TRAVAIL 80% (LIMITE INFERIEURE DE TRAVAIL)

A l'aide d'une pipette droite, introduire 1 ml de la solution standard de base dans une fiole de 10 ml et ajouter 4 ml de méthanol. Fermer et agiter la fiole. La solution obtenue doit contenir 1,00 mg de médicament total par ml et être étiquetée en tant que «*Solution Standard de Travail de Névirapine 80%*».

Cette solution standard de travail inférieure représente un produit de basse qualité contenant seulement 80% de névirapine tel que le mentionne l'étiquette de produit. Dans l'état actuel de la recherche, ce médicament représente la limite de qualité inférieure acceptable pour un produit pharmaceutique donné.

VI. PREPARATION D'UNE SOLUTION D'ECHANTILLON DE BASE A PARTIR DE FORMULES SOLIDES NECESSITANT UN DOSAGE DE 200 MG DE NEVIRAPINE PAR UNITE

Prendre un comprimé ou une gélule entiers à partir d'un produit pharmaceutique approprié, prélevé sur le terrain. Le comprimé doit être enveloppé dans une feuille d'aluminium, réduit en fine poudre à l'aide d'un pilon avant d'être introduit dans un flacon de laboratoire de verre de 50 ml. La poudre obtenue à partir d'une gélule doit être introduite directement dans le flacon en ajoutant également les deux parties de la coque de gélule. Ajouter alors 40 ml d'eau à l'aide d'une pipette droite, acidifier au-dessous de pH3 avec trois gouttes d'acide chlorhydrique concentré et vérifier l'acidité avec le papier test indicateur pH fourni. Fermer le flacon et agiter pendant 3 minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des parties solides. Laisser reposer la solution pendant 5 minutes encore jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au-dessous du liquide trouble de surface.

FORMULES LIQUIDES NECESSITANT UN DOSAGE DE 10 MG DE NEVIRAPINE PAR ML.

Ouvrir un récipient d'échantillon, transférer 4 ml de la suspension présentée dans un flacon de verre laboratoire de 10 ml et diluer avec 4 ml d'eau en utilisant à chaque fois des pipettes droites de dimension appropriée. Acidifier au-dessous de 3 pH avec une goutte d'acide chlorhydrique concentré en utilisant une pipette de transfert et vérifier l'acidité à l'aide du papier test indicateur de pH fourni. Fermer le flacon et agiter pendant trois minutes environ jusqu'à dissolution de la plupart des parties solides. Laisser reposer la solution cinq minutes encore jusqu'à ce que les résidus non dissous se déposent au-dessous du liquide clair ou trouble de surface.

Toutes les solutions obtenues doivent contenir 5 mg de médicament total par ml et être étiquetée en tant que «*Solution d'Echantillon de Base de Névirapine*». Préparer ces solutions juste avant chaque test. Continuer à travailler avec les liquides troubles de surface ou les dilutions claires à troubles obtenues.

VII. PREPARATION D'UNE SOLUTION D'ECHANTILLON DE TRAVAIL

A l'aide d'une pipette droite, introduire 1 ml de la solution d'échantillon de base dans une fiole de 10 ml et ajouter 3 ml de méthanol. Fermer, agiter la fiole et étiquetez-la en tant que «*Solution d'Echantillon de Travail de Névirapine*».

La concentration de médicament total escomptée dans cette solution est de 1,25 mg par ml et doit correspondre à la concentration de névirapine de la solution standard de travail supérieure produite ci-dessus.

VIII. APPLICATION DES TACHES

Tracer une ligne parallèle et à environ 1,5 cm du côté inférieur de la plaque chromatique et appliquer 2 μ l de chaque solution de test et solution standard préparées, comme il est indiqué sur la photo ci-contre, à l'aide des pipettes microcapillaires fournies.

Il est possible d'appliquer jusqu'à 5 taches sur une plaquette. Contrôler l'uniformité de toutes les taches à l'aide de la lampe à rayons UV de 254 nm. Toutes les taches doivent être de forme ronde 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 la présence de résidus de comprimé et excipients de gélule ou à des concentrations différentes de médicaments dans les solutions d'échantillons. Une différence dans la taille de la tache cependant, indique une application incorrecte des taches. Répéter cette étape si une application homogène des taches n'a pu être réalisée la première fois.

IX. DEVELOPPEMENT

A l'aide d'une pipette, introduire 11 ml d'acétate d'éthyle, 5 ml de méthanol et 4 ml de toluène dans le bocal utilisé en tant que chambre de développement CCM. Fermer la chambre et mélanger fermement. Border les parois de la chambre avec du papier filtre et attendre environ 15 minutes pour assurer la saturation de la chambre avec les vapeurs de solvant. Déposer avec précaution dans le bocal la plaquette CCM entachée. Fermer le bocal et procéder au développement de la plaquette jusqu'à ce que la ligne de solvant ait évolué aux trois-quarts environ de la longueur de la plaquette. La durée de développement est de 15 minutes à peu près. Retirer alors la plaquette du bocal, marquer la ligne de solvant et procéder à l'évaporation de tout excès de solvant à l'aide d'une plaque chaude, si nécessaire.

X. DETECTION

Sécher tous les résidus de solvant et observer la plaquette chromatique à l'aide de la lampe fluorescente à rayons UV de 254 nm fournie. Utiliser cette méthode de détection à des fins quantitatives. Une vérification supplémentaire de l'identité et du contenu du médicament peut être réalisée par observation de la même plaquette à la lumière du jour après coloration à l'iode.

XI. PLAQUETTE CHROMATIQUE OBSERVEE A 254 NM

Dvpt. n° 1 :

Solution standard représentant 100% de névirapine, stavudine et lamivudine totales en tant que limite de travail supérieure.

Dvpt. n° 2 :

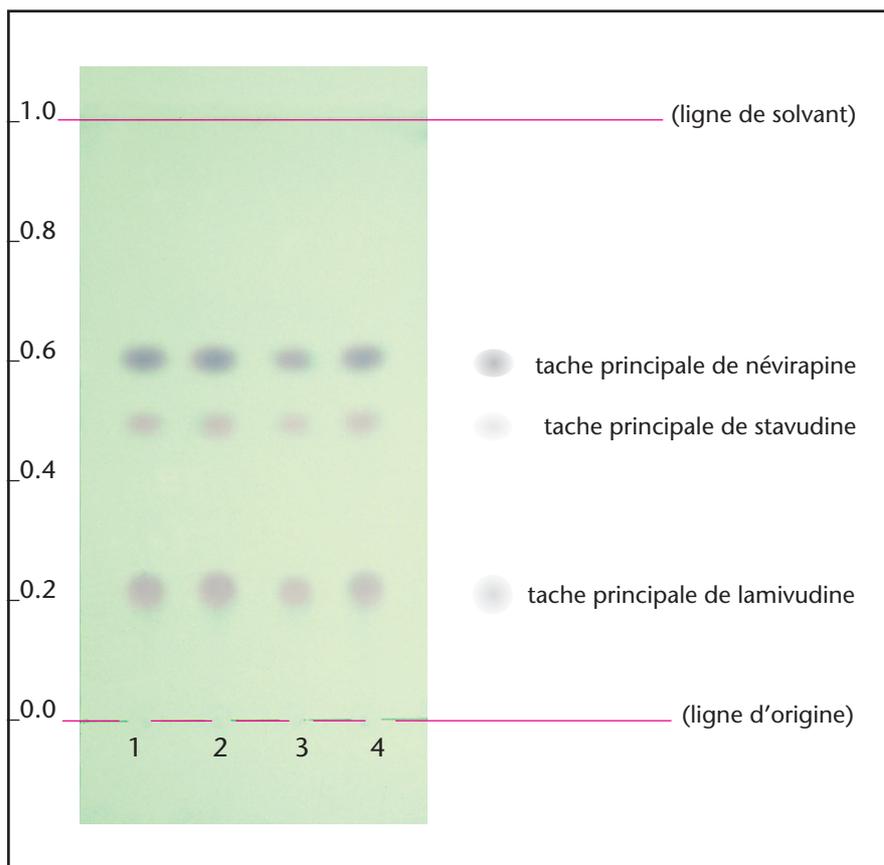
Un produit pharmaceutique à combinaison triple fixe de bonne qualité.

Dvpt. n° 3 :

Un produit pharmaceutique à combinaison triple fixe de basse qualité.

Dvpt. n° 4 :

Solution standard représentant 80% de névirapine, stavudine et lamivudine totales en tant que limites de travail inférieures.



XII. OBSERVATIONS A 254 NM

La présence de névirapine est indiquée par une forte tache bleu-violet à une distance de déplacement d'environ 0,60 lorsque la plaquette chromatique est observée à l'aide de la lampe à rayons UV fournie avec le minilab. Dans les antirétroviraux où la névirapine est présentée en tant que combinaison fixe avec la stavudine et lamivudine, une seconde et troisième tache principale peuvent être observées à une distance de déplacement respective de 0,48 et 0,21 environ. Des fortes taches supplémentaires générées par la solution de test signalent une détérioration de médicament, en particulier lorsqu'elles sont accompagnées d'une tache principale plus petite. Quelques taches plus faibles apparaissant près ou sur la ligne d'origine de la plaquette chromatique sont généralement dues aux agents auxiliaires composant les différentes formules de produits.

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

Lorsque l'on expose la plaquette chromatique à la vapeur d'iode, de nombreuses taches faibles brun-orange apparaissent, correspondant au modèle de taches déjà observé sur la plaque exposée aux rayons UV de 254 nm.

XIV. RESULTATS ET MESURES A PRENDRE

La/les tache(s) principale(s) de chromatogramme obtenue(s) à l'aide de la solution de test, doit/doivent correspondre en termes de couleur, taille, intensité, forme et distance de déplacement à la tache obtenue dans le chromatogramme à l'aide de la solution standard inférieure et supérieure. On doit parvenir à ce résultat pour toute méthode de détection. Si ce n'est le cas, répétez le développement à l'aide d'un second échantillon de départ. Ecartez le lot si le contenu du médicament ne peut être constaté au cours d'un troisième développement. Pour un deuxième jugement, transmettre tous les échantillons à un laboratoire de contrôle pharmaceutique entièrement équipé. Conserver les échantillons et placer le lot en quarantaine jusqu'à obtention d'une décision définitive de rejet ou de validation.