



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

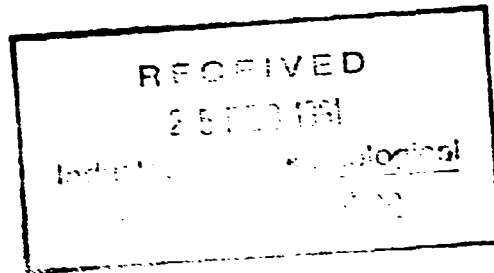
CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org

18934

RESTREINTE



DP/ID/SER.A/1441
20 février 1991
Original : FRANCAIS

1.50
pages

**ASSISTANCE AU CENTRE NATIONAL DE RECHERCHES PHARMACEUTIQUES
POUR LA FABRICATION DE PRODUITS PHARMACEUTIQUES
A PARTIR DE PLANTES MEDICINALES**

DP/MAG/84/017

MADAGASCAR

**Rapport technique : Assistance pour la conception de procédés
de contrôles analytiques de qualité de médicaments
et de produits aromatiques d'origine végétale***

Etabli pour le Gouvernement de Madagascar par l'Organisation des Nations Unies
pour le développement industriel, Organisation chargée de l'exécution
pour le compte du Programme des Nations Unies pour le développement

**D'après l'étude de M. Pierre G. Grelet
Ingénieur chimiste - Consultant ONUDI**

Fonctionnaire chargé de l'appui au projet : M. R.O.B. Wijesekera,
Services des industries chimiques

Organisation des Nations Unies pour le développement industriel
Vienne

* Le présent rapport n'a pas fait l'objet d'une mise au point.

Table des Matieres

	PAGE
INTRODUCTION	1
<u>CHAPITRE I</u> : INVENTAIRE ET VERIFICATIONS DES MOYENS DISPONIBLES	2
A - Rappels	2
B - Equipement	2
C - Vérifications	3
D - Recommendations	3
<u>CHAPITRE II</u> : EXAMINATION DES DOSSIERS D'AMM PRESENTES	5
A - Connaissance des dossiers	5
B - Bilan	5
C - Conclusions et recommandations	6
<u>CHAPITRE III</u> : QUELQUES APPLICATIONS SUR LE CONTROLE DE QUALITE	8
A - Pièces nécessaires à la constitution d'un dossier scientifique	8
B - Protocole analytique	9
C - Exemples d'application	10
CONCLUSION	12
ANNEXE	13

INTRODUCTION :

La flore de Madagascar comprend plus de 10 000 espèces de plantes connues dont plus des 3/4 sont indigènes à la Grande Ile.

Parmi ces plantes un très grand nombre sont utilisées en médecine locale et traditionnelle. Des études récentes sur les plantes en laboratoire spécialisé ont montré par des recherches chimiques approfondies l'existence de principes actifs reconnus. Elles sont souvent le point de départ de découvertes pour les nouvelles molécules dites "actives" que l'on peut préparer par voie synthétique ou hémisynthétique moins onéreuse. Notre mission a pour objet d'apporter une assistance pour la conception de procédés de contrôles analytiques d'un point de vue chimique et galénique dans les opérations successives d'extraction, de purification, de fabrication (étapes intermédiaires) et de conditionnement. D'où la notion de "contrôle de qualité" qui sera développée au Centre National de Recherches Pharmaceutiques (CNRP).

Le laboratoire de contrôle des médicaments et produits aromatiques d'origine végétale dispose d'équipements pour l'analyse des formes pharmaceutiques solides et liquides. Il s'intéresse à la qualité des médicaments produits et commercialisés à Madagascar et à la qualité des huiles essentielles obtenues à partir de plantes aromatiques malgaches. Il intervient dans toutes les opérations pré-citées. Nous avons insisté durant notre séjour sur la mise en place de règles en contrôles analytiques de qualité. Cela suppose une prise de conscience et une motivation de tout le personnel et une coopération dans le travail quotidien.

CHAPITRE I - INVENTAIRE ET VERIFICATION DES MOYENS DISPONIBLES :

A - RAPPELS :

En général, l'arsenal des appareils d'analyse utilisés en laboratoire de contrôle est impressionnant ; il va de la simple pipette au spectrophotomètre ou appareil de chromatographie très sophistiqué et très cher. Heureusement, il est possible de réaliser beaucoup d'analyses à l'aide d'un matériel simple et d'avoir une idée assez précise sur les moyens que l'on développera pour une mise au point plus élaborée.

B - EQUIPEMENT :

Dans un premier temps, nous avons analysé le potentiel humain et matériel dont disposait le centre au niveau du Département d'Extraction et Chimie et accessoirement du Département de Pharmacie Galénique : soit 4 à 5 cadres et une dizaine d'agents techniques.

Pour le matériel en Chimie :

- systèmes d'extraction en laboratoire diversifiés (extracteur, essencier, soxhlet, etc...),
- spectrophotomètre UV-VISIBLE (VARIAN),
- spectrophotomètre INFRA-ROUGE (PERKIN-ELMER),
- chromato phase gazeuse (FID-Cath.) (VARIAN),
- Chromato phase liquide - HPLC (UV-RI) (VARIAN),
- chromato sur couches minces + accessoires,
- refractomètre d'Abbe,
- collecteurs de fractions,
- balance de précision,
- polarimètre digital (incomplet),
- petit matériel de verrerie,
- mesure du point de fusion,
- pastilleuse pour INFRA-ROUGE,
- pH mètre.

Un appareil de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) BRUKER - 80 MHz à impulsions (détermination de structure) est en réparation donc non opérationnel.

Pour le matériel en Galénique :

- mesure du temps de désagrégation pour les formes solides (comprimés et dragées),
- mesure de la friabilité,
- mesure de la dureté,
- mesure de la viscosité pour les formes liquides (sirop) et pâteuses,
- mesure de la densité pour les formes liquides,
- four à mouffle + accessoires,
- autoclave.

...

Rappelons que le laboratoire de Galénique doit coopérer étroitement avec le laboratoire de Chimie analytique.

Pour le laboratoire de Chimie et de Galénique, quelques accessoires de filtration rapide et de purification pour échantillons avant injection en GC ou HPLC, une micropipette graduée pour la CCM, des étuves programmables en température, un pied à coulisse et un palmer pour les cotes des comprimés, apporteraient un "4" à l'application des normes de contrôle analytique de qualité. Certains de ces postes sont en commande ou en attente.

C - VERIFICATIONS :

Dans un premier temps, nous avons vérifié quelques paramètres simples sur l'appareil de chromatographie en phase gazeuse. Nous avons contrôlé les débits de gaz vecteur (azote) à l'entrée colonne en étalonnant le débit-mètre à aiguille en fonction de la pression admise (voir courbes en annexe).

C'est un détail qui permet de contrôler et d'optimiser les conditions opératoires. Une application est en cours sur la séparation des constituants de l'huile essentielle d'YLANG-YLANG (+ de 70 pics).

L'appareil spectro-UV-VIS-VARIAN présente une anomalie au niveau de l'enregistrement du spectre entre 210 et 280 nm (zone très utile). Ce défaut n'est pas constant, il est certainement dû à un blocage aléatoire du réseau du monochromateur.

Une balance de précision METTLER monoplateau précise au 1/10 de mg, présentait un décalage dans la lecture de l'échelle des 100 mg ainsi qu'un blocage du monoplateau. Nous avons réaligné les faisceaux lumineux sur le vernier de lecture et réglé le zéro à l'aide des masselottes verticales et latérales. Toutefois, à cause d'un défaut au niveau des cavaliers (nous ne disposons pas de l'outillage) ; il n'est pas possible d'effectuer des pesées supérieures à 9,999 g. Cette remise en état partiel permet de dépanner momentanément le laboratoire de contrôle et de réaliser des pesées au 1/10 mg.

L'appareil de chromatographie HPLC, ne présentait pas d'anomalie caractéristique au moment de notre passage.

D - RECOMMANDATIONS :

C'est volontairement que nous nous sommes attardés sur les détails au niveau de la maintenance du matériel. Cela montre l'importance de l'entretien dans un contexte de "contrôles analytiques de qualité". Il faut régulièrement révéifier les paramètres courants de fiabilité, de reproductibilité, de sensibilité, de limites de détection et d'étalonnage. Les fabricants d'appareil fournissent des solutions tests (test sample) pour effectuer ces vérifications selon une procédure établie. Un cahier des charges peut être ouvert et tenu à jour.

...

Enfin nous préconisons l'idée suivante : lors de l'achat d'un matériel assez sophistiqué, il serait recommandable d'établir avec le vendeur un contrat d'entretien simple et de suivi (en dehors de la garantie annuelle) inclu dans le prix d'achat. Cette convention ou charte peut être discutée; nous sommes disposés à vous y aider.

CHAPITRE II : EXAMINATION DES DOSSIERS D'AMM PRÉSENTÉS :

Nous avons réexaminé à la lecture deux dossiers de "demande d'autorisation de mise sur le marché" de 2 spécialités génériques, élaborées et mises au point au CNRP.

A - CONNAISSANCE DES DOSSIERS :

La première spécialité se dénomme "HEVOKINA". C'est une solution inhalante présentée en flacon de verre de 125 ml à base :

- d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus,
- d'huile essentielle de "Melaleuca viridiflora" (Niaouli),
- d'huile essentielle de "Pinus Kasuya",

L'ensemble est solubilisé dans l'éthanol à 96°C qsp.

Elle est utilisée dans les affections bronchiques bénignes et soulagement temporaire des maux de gorge et enrhumements passagers.

La deuxième spécialité se dénomme "MARATONY". C'est un sirop simple présenté en flacon de 125 ml à base :

- d'extrait fluide de Passiflora incarnata,
- d'extrait fluide de Cymbopogon citratus,
- d'huile essentielle de "Cymbopogon citratus",
- de benzoate de sodium (conservateur)
- et de sirop simple à 64°5 BRIX qsp.

Il est utilisé dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants notamment en cas de troubles mineurs du sommeil.

Pour ces deux spécialités, la préparation des matières premières (huiles essentielles et extraits fluides) incombe au CNRP. Ce dernier a développé ses propres plantations et contrôles afin d'assurer une certaine homogénéité dans la provenance, dans la période de récolte, dans le traitement et l'extraction à partir des feuilles ou des fleurs.

Dans l'ensemble, le cheminement des dossiers suit un plan établi sur le modèle de la législation française en matière d'AMM.

B - BILAN :

Rappelons que les phénomènes climatiques sont difficilement maîtrisables lors de la pousse et de la récolte. On a essayé de minimiser les facteurs impondérables qui en découlent. Cette décision est bonne. On pourrait la développer en établissant un protocole avec les partenaires qui assurent la récolte et l'approvisionnement des plantes.

...

Les analyses courantes des matières premières peuvent être réalisées selon la pharmacopée lorsqu'elles y sont inscrites ; dans le cas contraire, il est nécessaire d'établir des spécifications propres au laboratoire.

Pour information, en France, le Ministère (Santé et Affaires Sociales) chargé d'étudier les dossiers a émis quelques recommandations par l'intermédiaire du SNIP (Syndicat National de L'Industrie Pharmaceutique).

Utiliser des techniques simples si possible. Par exemple on prendra la CCK (TLC) pour l'identification spécifique des substances actives et des dérivés de décomposition (si nécessaire); à fortiori dans les études de stabilité.

Il est admis d'utiliser pour le dosage des principes actifs des techniques chromatographiques plus sophistiquées comme l'HPLC ou la CPG. Cette dernière est recommandée pour les huiles essentielles.

Dans le cas présent des 2 spécialités, il faut rechercher et doser les constituants dits "actifs" à savoir la teneur en huiles essentielles et en extraits fluides (Eucalyptus, Miaouli et Pinus kashya pour "HEVOKINA" et alcaloïdes et flavonoïdes du Passiflora incarnata et le citral dans le Cymbopogon citratus pour "MAHATONY".

Une étude de stabilité en temps réel est toujours demandée. Il existe un protocole établi à l'avance : contrôles à 1 mois, 3 mois, 6 mois, 1 an, 18 mois, 2 ans et 3 ans.

La date de péremption est habituellement de 3 ans dans des conditions normales de stockage (température et pression).

Si certaines précautions doivent être prises à l'utilisation, il faut l'indiquer sur l'emballage ou sur la notice explicative, exemple (utilisation après ouverture, conservation à basse température à l'abri de la lumière).

Enfin la posologie moyenne doit être spécifiée afin d'éviter les abus.

C - CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS EN GENERAL :

A la lecture des dossiers scientifiques notre impression est favorable

A part quelques erreurs de mise en page notées, on pourrait insister sur le détail des modes opératoires analytiques et en indiquer leurs limites

Lors des dosages des lots de forme pharmaceutique, il est préférable d'utiliser comme témoins des substances ou matières premières qui ont servi à la préparation des dits "lots" - se référer à la fiche de fabrication.

...

Ces matières premières qui servent de témoin doivent bien sûr être analysées dans le cadre des "bulletins de contrôle-matière première". Il faut s'assurer de leur provenance et déterminer leur teneur exacte par comparaison avec une substance de référence dite "étalon". Nous insistons sur l'acquisition de ces substances étalons. Elles seront gardées dans un endroit fermé sous la responsabilité du Chef de service. Pour information, il est possible de se procurer ces substances étalons dans des laboratoires tels que S.G.A, EXTRA SYNTHESE, ALDRICE, etc... Ils en assurent la pureté et la constance, ce qui explique leur prix plus élevé.

Enfin munis de ces règles et en espérant que les dossiers déposés soient acceptés on pourra envisager une étude sur la "validation des méthodes". Pour l'entreprendre, il nous faut collationner un certain nombre de résultats. Une procédure de "validation des méthodes" est en cours d'élaboration par une commission française de la SPSTP où nous siégeons. Elle fera l'objet de recommandations au niveau de la CEE dès sa parution.

Cette dernière remarque correspond tout à fait au développement et à l'introduction du "contrôle analytique de qualité" au laboratoire.

CHAPITRE III : QUELQUES APPLICATIONS SUR LE CONTROLE DE QUALITE :

A l'aide de quelques exemples concrets, nous avons développé quelques applications de contrôle de qualité à des spécialités choisies par le CNRP à base de principes actifs synthétiques connus.

La première démarche consiste à faire une recherche bibliographique sur les propriétés physico-chimiques et galéniques de la substance active.

Si possible, connaître les excipients qui entrent dans la forme pharmaceutique.

Le CNRP possède quelques ouvrages de base utiles (pharmacopées, Merck Index, l'Officine (Dorvault), etc...). La compétence des personnes habilitées à cette recherche ne pose pas de problème.

A - PIECES NECESSAIRES A LA CONSTITUTION D'UN DOSSIER SCIENTIFIQUE :

- Se procurer tous les bulletins de contrôle analytique des matières premières (principes actifs + excipients) auprès des fournisseurs. Ils doivent répondre à la conformité-pharmacopée s'ils y sont inscrits. Si le laboratoire fabricant est son propre fournisseur, il doit développer une spécification interne.

- Se procurer la fiche de suivi de fabrication auprès du laboratoire de galénique.

Au risque de nous répéter, dans le cas de matière première active non pure (huiles essentielles, extraits de plantes, élixirs ou autres mélanges), il faudra s'établir certaines règles, à savoir :

- Définir la composition de la matière utilisée (technique appropriée).
- Choisir un constituant caractéristique (pic bien isolé dans le cas de séparation chromatographique).
- Loser ce constituant par comparaison avec une substance étalon.
- On disposera ainsi d'un moyen de contrôler notre matière première non pure. Notion importante.
- S'assurer de la pureté des solvants utilisés tout au long des analyses

...

B - PROTOCOLE ANALYTIQUE :

Il est établi selon un plan défini pour la forme pharmaceutique (solide, liquide, pâte).

B.1. Tests physiques - Aspect - Masse :

On note les caractères organoleptiques, la couleur, l'aspect. Pour les formes solides, on pèse 20 unités séparément. On calcule la moyenne arithmétique. L'écart toléré pour la masse est de $\pm 5\%$ de la masse théorique (voir fiche de fabrication).

B.2. Tests galéniques :

Pour les formes solides, réaliser les tests à l'effritement, à la dureté, le temps de désagrégation, les cotes précises. Il peut être demandé le test de dissolution (à sous traiter). Ces descriptions se retrouvent dans la pharmacopée à la rubrique "comprimés".

Pour les liquides, on mesure la densité, le degré alcoolique si besoin, la viscosité.

B.3. Tests d'identification :

Ils sont obligatoires pour le principe actif et peuvent être exigés pour les excipients.

Nous recommandons d'utiliser la CCK bien maîtrisée par les techniciens du centre.

B.4. Recherche des impuretés :

Cette recherche est en corrélation avec les bulletins de contrôle des matières premières (excipients et principes actifs).

On l'applique dans l'étude de la stabilité en cas de formation de dérivés de décomposition. Notons qu'une étude de vieillissement accéléré (bien que n'étant pas officiellement reconnue) peut donner des renseignements sur ces phénomènes de décomposition.

B.5. Dosage du principe actif :

Il est obligatoire dans la forme pharmaceutique. Il est recommandé d'opérer directement sur la forme (comprimés, dragées, solution, sirop) sans traitement préalable pour éviter des pertes par extractions successives. On ne maîtrise pas toujours de façon rigoureuse ces rendements d'extraction.

...

Le dosage exact de la spécialité doit être fourni par le fabricant, il est également indiqué sur l'emballage ou sur la notice explicative de la dite "spécialité".

A partir de ces données, on effectue le dosage par une technique appropriée. Elles sont toutes bonnes à condition de les vérifier. Toute liberté de choix est laissée à l'opérateur astucieux qui donne satisfaction.

Par exemple, on peut dire qu'on prendra la GC pour les huiles essentielles et extraits fluides, l'HPLC pour les substances qui absorbent en UV-VISIBLE (la majorité des substances organiques d'où son nom de détecteur universel). Un dosage acide-base en milieu aqueux ou non aqueux peut être indiqué.

Pour illustrer ces propos nous indiquons la méthode par étalonnage externe. Elle consiste à comparer deux résultats dont l'un est l'essai (inconnu au lot à doser) et l'autre le témoin (théorie) préparé à partir de la matière première qui contient le principe actif du lot essai. La matière première est souvent le principe actif sauf dans les mélanges, extraits fluides et huiles essentielles.

Le témoin et l'essai sont traités de façon identique en parallèle. Ainsi, on élimine les facteurs d'erreur inhérents à la manipulation, à l'extraction (s'il y en a une), à tout paramètre extérieur inconnu. On obtient directement le résultat du dosage en principe actif dans la forme pharmaceutique. On peut l'exprimer en mg/unité ou en pourcentage.

Les résultats ainsi collectés peuvent servir à développer la "validation des méthodes" mentionnée CHII/C.

C - EXEMPLES D'APPLICATION :

C.1. Spécialité à base de chloroquine :

Les spécialités à base de chloroquine sont utilisées dans le traitement de la malaria (Paludisme), amibiase hépatique, lupus érythémateux, polyarthrite rhumatoïde. Le dosage est en général de 100 mg de chloroquine base ($C_{18}H_{26}ClN_3$, PM.320) par comprimé ou dragée. On utilise de préférence pour les préparations les sels de chloroquine = le diphosphate de chloroquine ($C_{18}H_{32}ClN_3O_8P_2$, PM.516) et le sulfate de chloroquine ($C_{18}H_{28}ClN_3O_4S$, PM.418).

Nous avons étudié une spécialité à base de diphosphate de chloroquine. Nous avons réalisé les tests mentionnés au B1, B2, B3, B4. Un système d'extraction par le chlorure de méthylène en milieu basique est à l'étude. L'identification se fait par CCM.

Le dosage direct en milieu anhydre par l'acide perchlorique 0,1N montre que le diphosphate de chloroquine ne titre que 90 % de pureté: valeur insuffisante.

...

Par manque d'informations sur la provenance des échantillons, nous ne pouvons conclure sur la qualité de la fabrication.

C.2. Spécialité à base de chloramphénicol :

Les spécialités à base de chloramphénicol ont une activité antibiotique dans un spectre très étendu ; elles sont utilisées contre les fièvres typhoïde et paratyphoïdes, les infections neuroméningées (shigelloses, rickettsies). Le dosage du chloramphénicol ($C_{12}H_{11}ClN_2O_2$, PM.323) est en général de 250 mg/comprimé. C'est une substance soluble dans le méthanol qui absorbe à 278 nm. Nous avons appliqué les tests précités.

Le dosage direct par HPLC sur colonne RP 1b en milieu méthanol/eau/ACOH donne les résultats satisfaisants (voir droite d'étalonnage en annexe).

C.3. Autres spécialités :

Nous avons prévu d'étudier d'autres spécialités. Nous ne possédons pas tous les réactifs nécessaires et le temps ne nous en a pas permis. Il s'agit de :

- à base de Metronidazole ($C_4H_7N_3O_2$, PM.171) contre les infections à trichomonas (urétrites, vaginites) amibiase intestinale et hépatique, dosée à 250 mg/comprimé ;

- à base de Paracétamol ou Acétaminophen ($C_8H_9NO_2$, PM.151) utilisé comme analgésique, antalgique, antipyrétique, dosé à 500 mg/comprimé ;

- à base de sulfamide ($H_2N_2O_2S$, PM.96) utilisé comme antiséptique et antibactérien.

CONCLUSION

En encourageant le CHRP à appliquer les règles et recommandations énoncées, nous sommes persuadés qu'il a la possibilité et l'ambition de se développer comme "Centre pilote et de référence" pour l'industrie pharmaceutique malgache en matière de méthodologie analytique. Il en est capable s'il s'en donne les moyens.

Nous souhaitons que les études entreprises soient poursuivies après notre départ dans un but de formation et d'application des "contrôles analytiques de qualité".

Bonne chance au CHRP dans ses orientations diverses.

