

215-057074

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR,
DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION TECHNOLOGIQUE

UNIVERSITE DE COCODY

U.F.R SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

ANNEE 2001 – 2002

N°.....

MEMOIRE

Pour le
Diplôme d'Etudes Supérieures Spécialisées (D.E.S.S.)
de contrôle de qualité

**DOSAGE DES SPECIALITES ET GENERIQUES
PHARMACEUTIQUES DE LA CHLOROQUINE
PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE
PERFORMANCE**

Présenté par

Dr AMIN N'Cho Christophe
Assistant en Chimie Minérale
Pharmacien biologiste
Ancien interne des hôpitaux

Responsable du D.E.S.S

Professeur MALAN Kla Anglade

Directeur de mémoire

Dr AKE Michèle (Maître Assistant)

SOMMAIRE

	page
ABBREVIATIONS	: 2
INTRODUCTION	: 3
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	: 4
I – CHLOROQUINE	: 5
I.1 – Structure	: 5
I.2 – Propriétés physico-chimiques	: 5
I.3 – propriétés pharmacologiques	: 6
I.4 – Méthodes d'analyse de la chloroquine	: 10
II – CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE	: 13
II.1 – Principe	: 13
II.2 – Paramètres de validation d'une méthode d'analyse	: 13
DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE	: 14
I – MATERIEL ET METHODES	: 15
I.1 – Matériel	: 15
I.2 – Méthodes d'analyse	: 18
I.3 – Traitement statistique	: 21
II – RESULTATS ET DISCUSSION	: 22
II.1 – Résultats	: 22
II.2 – Commentaire et Discussion	: 29
CONCLUSION	: 32
BIBLIOGRAPHIE	: 33

ABREVIATIONS

HPLC ou CLHP	: Chromatographie Liquide Haute Performance
cc	: cuillère à café
cm	: centimètre
cp	: comprimé
ECG	: ElectroCardioGramme
l	: litre
M	: Molarité
mg	: milligramme
mn	: minute
ml	: millilitre
N	: Normalité
nm	: nanomètre
UFR	: Unité de Formation et de Recherche
UV	: ultra violet
µg	: microgramme

INTRODUCTION

L'OMS estime à plus de deux milliards le nombre de sujets exposés au paludisme (15) avec plus de deux millions de victimes par an à travers le monde dont plus de la moitié pour la seule Afrique Noire(12).

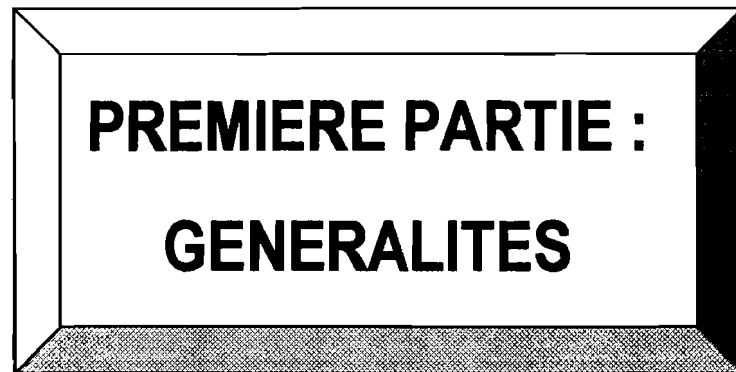
La mise en œuvre des traitements prophylactiques, présomptifs ou curatifs des crises de paludisme est conditionnée par la présence ou non dans le pays considéré de souches de Plasmodium falciparum chloroquinorésistantes.

La Côte d'Ivoire fait partie des pays où il y a une existence faible de chloroquinorésistance(4).

Mais avec la dévaluation du franc CFA, la Côte d'Ivoire, pour amoindrir le coût de revient du traitement antipalustre, a fait jouer la concurrence en ouvrant son marché pharmaceutique à de nombreux médicaments aussi bien des génériques que des spécialités pharmaceutiques. Avec le coût de revient de la chloroquine qui reste le moins cher parmi tous les médicaments antipaludiques et sachant qu'il existe beaucoup de génériques à base de chloroquine, nous nous sommes intéressés à vérifier les titres de ces médicaments.

Pour atteindre ce but nous allons :

- dans un premier temps, valider une technique fiable de dosage de la chloroquine ;
- dans un second temps, appliquer cette technique au dosage des médicaments sélectionnés de diverses spécialités et génériques de chloroquine présents sur le marché ivoirien ;
- dans un troisième temps, comparer les résultats obtenus.



PREMIERE PARTIE :
GENERALITES

I – LA CHLOROQUINE

I.1 – STRUCTURE

La chloroquine est un antipaludique de synthèse, dérivé de l'amino-4-quinoléine de formule brute **C₁₈H₂₆ClN₃**.

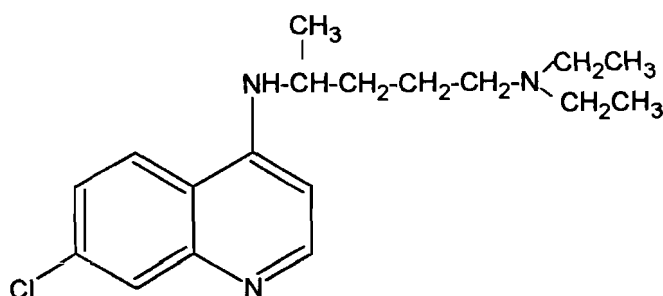


Figure 1 : Structure de la Chloroquine

La poudre de chloroquine est retrouvée sous forme de sulfate de formule brute **C₁₈H₂₈ClN₃O₄S** et de phosphate de formule brute **C₁₈H₃₂ClN₃O₆P₂** (1)

I.2 – PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES

La chloroquine se présente sous forme de poudre blanche à saveur amère.

Les sels de chloroquines sont hydrosolubles et peu solubles dans les solvants organiques.

La chloroquine est un composé à caractère basique.

Les points de fusion caractéristiques sont 195° à 200° C pour la chloroquine phosphate et 205° à 210° C pour la chloroquine sulfate.

1.3 – PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES (13)

1.3.1 – MODE D’ACTION

La chloroquine a une activité :

- antimalarique

Elle est fondée sur l’inhibition de la polymérase du DNA (acide désoxyribonucléique) chez l’hématozoaire en empêchant ainsi sa réplication.

- cardiaque
- anti-inflammatoire

1.3.2 – PROPRIETES PHARMACOCINETIQUES

1.3.2.1 – Absorption de la chloroquine

L’absorption de la chloroquine, prise par voie orale, est rapide et intense.

Les concentrations maximales sont obtenues entre la 2^{ème} et la 6^{ème} Heure après l’administration du médicament. La prise de nourriture facilite l’absorption de la chloroquine et augmente la biodisponibilité (fraction de la dose administrée qui atteint la circulation générale et de la vitesse à laquelle elle l’atteint). Elle est environ 80% (5).

1.3.2.2 – Distribution

La chloroquine est largement distribuée dans l’organisme surtout au niveau des globules rouges. La liaison aux protéines plasmatique est d’environ 50 %.

I.3.2.3 – Métabolisme

La chloroquine est catabolisée dans le foie à environ 25 % de la dose administrée et les produits dérivés sont actifs sur l'hématozoaire. Le principal métabolite est la déséthylchloroquine. Elle a une distribution et une activité semblable à celle de la chloroquine.

I.3.2.4 – Excrétion

L'élimination de la chloroquine se fait essentiellement par voie rénale puisque 50 à 60 % de la dose administrée sont retrouvés dans les urines dont 70 % sous forme inchangée, 25 % sous la forme déséthylchloroquine et 5 % sous forme d'autres métabolites. Cette élimination urinaire est très lente. On observe par conséquent une accumulation dans l'organisme et une longue durée d'action. La chloroquine traverse la barrière placentaire et passe faiblement dans le lait maternel (2,2 à 4,2 % de la dose administrée).

I.3.3 – INDICATIONS

Les indications sont :

- en **Parasitologie** : le traitement prophylactique, présomptif et curatif du paludisme.
- en **Rhumatologie** : le traitement curatif, symptomatique de la polyarthrite Rhumatoïde.
- en **Dermatologie** : le traitement du Lupus érythémateux disséminé, du Lupus érythémateux subaigu, le traitement d'appoint ou de prévention des rechutes des lupus systémiques et la prévention des lésions.

I.3.4 – EFFETS SECONDAIRES

On observe fréquemment des prurits, des éruptions cutanées, une pigmentation ardoisée en particulier des ongles et des muqueuses, des troubles digestifs.

Aux doses élevées ou lors de traitement prolongé, on observe des troubles oculaires variables (troubles transitoires de l'accommodation, opacifications de la cornée régressant à l'arrêt du traitement, parfois des rétinopathies irrésistibles), rarement une neuro-myopathie.

I.3.5 – PRECAUTIONS

L'utilisation prudente de la chloroquine est de mise en cas d'insuffisance hépatique ou rénale, de psoriasis (aggravation des lésions).

Chez les sujets atteints de porphyrie intermittente, la prise de chloroquine peut déclencher la survenue d'une crise aiguë.

I.3.6 – GROSSESSE ET ALLAITEMENT

La chloroquine peut être administrée pendant la grossesse et l'allaitement.

I.3.7 – INTOXICATION A LA CHLOROQUINE (3)

Les doses toxiques de la chloroquine sont :

- Chez l'adulte à partir de 2g de chloroquine base en une prise (soit 20 comprimés de 100mg).
- Chez l'enfant de 10 kg, 20 kg, 30 kg, 40 kg, respectivement à partir de 2, 5, 7, 10 comprimés de 100 mg en une prise.

I.3.7.1 – Les symptômes

Les symptômes se manifestent par :

- des troubles digestifs (nausées, vomissements),
- des troubles neurologiques (céphalées, étourdissements, convulsion, coma),

- des troubles visuels (vision floue, piplopie),
- des signes cochléo-vestibulaires (vertiges, bourdonnement d'oreilles, hypoacousie),
- des signes cardiovasculaires (une anomalie de l'ECG par l'aplatissement de l'onde T, l'allongement de l'espace QT et l'élargissement du QRS, une bradyarythmie, une asystolie, une torsade de pointe, une hypotension, un collapsus cardiovasculaire) ; un arrêt respiratoire et cardiaque peut intervenir brutalement et précocement.

I.3.7.1 – Traitement des intoxications

I.3.7.2.1 – Traitement évacuateur

Le lavage gastrique précoce permet de soustraire des quantités de chloroquine mais il doit être fait chez un malade conscient. L'intubation trachéale précède le lavage en cas de coma.

I.3.7.2.2 – Traitement symptomatique

En cas de :

- troubles de conscience, il faut faire une intubation et une ventilation assistée,
- troubles visuels, il faut administrer un vasodilatateur par voie veineuse,
- collapsus, il faut administrer un sel de sodium hypertonique et l'adrénaline en perfusion continue,
- torsade de pointe, il faut administrer l'isoprénaline pour corriger les troubles du rythme et prévenir leur récurrence.

I.3.7.2.3 – Traitement spécifique

Il faut administrer : - du Diazépam 0,5 mg/kg par voie intraveineuse lente,
- de l'Adrénaline 0,2 mg à la demande en intraveineuse lente.

I.4 – METHODES D'ANALYSE DE LA CHLOROQUINE

I.4.1 – ANALYSE QUALITATIVE

I.4.1.1 – Les caractères organoleptiques

La chloroquine est une poudre cristalline blanche, inodore et amère (13).

I.4.1.2 – Les méthodes physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques de la chloroquine sont :

- **la température de fusion** : 205 à 210°C pour la chloroquine sulfate et 195 à 200°C pour la chloroquine phosphate,
- **la température eutectique** : environ 143°C,
- **le spectre d'absorption dans l'UV** (dans H_2SO_4 0,5 N) : on observe quatre maxima [343, 330, 256 et 220 nm) ;
- **la réaction de fluorescence en milieu aqueux acidifié** (H_2SO_4) : on observe en lumière de Wood une fluorescence bleu-vert non spécifique et peu intense. Mais après alcalinisation du milieu à pH = 9,5-10, Cette fluorescence devient plus importante(7) ;
- **les réactions colorées** utilisées pour l'identification des anions qui sont :
 - + la caractérisation de l'anion sulfate par la formation de sulfate de baryum insoluble en milieu acide,
 - + la caractérisation de l'anion phosphate par le réactif molybdovanadique après réduction par le chlorure stanneux (on obtient une coloration bleue) ;

- **La chromatographie sur couche mince**

Elle utilise une plaque en gel de silice. Le solvant d'imprégnation est constitué d'acétone, d'eau et d'ammoniaque dans un rapport de 90 – 29 – 1. On observe des spots en UV donnant une fluorescence verte. La révélation se fait avec des réactifs de DRAGENDORF. Le réactif de DRAGENDORF est composé de :

- carbonate de bismuth : 5g
- eau distillée : 50 ml
- acide chlorhydrique concentré pur : 10 ml
- iodure de potassium 25% : 100 ml

I.4.1 – ANALYSE QUANTITATIVE (8,9)

I.4.1.1 – Dosage de la chloroquine par spectrophotométrie UV

La poudre de chloroquine est dissoute dans une solution aqueuse d'HCl 0,1 %. Le dosage est effectué par absorption ultraviolet à la longueur d'onde du maximum d'absorption (343 nm).

I.4.1.2 – Dosage spectrofluorimétrique

L'extraction de la chloroquine se fait par l'éther en milieu alcalin. La chloroquine est reprise par l'HCl 0,1N. Le dosage fluorimétrique se fait en présence de NaOH 0,1 N, d'un tampon pH=9,7 et d'une solution neutralisée de cystéine. La lecture se fait en fluorimétrie avec une longueur d'onde d'excitation de 350 nm et une longueur d'onde d'émission de 405 nm.

I.4.1.3 – Dosage de la chloroquine par chromatographie sur couche mince (CCM)

La phase stationnaire est le gel de silice F2S4 merk 0,25 nm d'épaisseur. La phase mobile est constituée d'un mélange d'acétate d'éthyle, d'éthanol et d'ammoniaque. La solution à analyser est constituée de solution aqueuse de chloroquine et la solution témoin par une solution aqueuse de chloroquine de référence.

La révélation se fait sous lampe UV à 254 nm et la quantification, par spectrophotodensitométrie.

I.4.1.4 – Dosage de la chloroquine par chromatographie en phase gazeuse coupée à la spectrométrie de masse

Elle se fait après épuisement du principe actif avec du méthanol puis analyse de la solution méthanolique obtenue. Les conditions d'analyse sont :

- four : température initiale 150°C,
- injecteur : température 250°C,
- gaz vecteur hélium : vitesse linéaire 40 cm/seconde,
- détecteur ITD : acquisition m/z de 50 à 450, un balayage (scan)/seconde.

I.4.1.5 – HPLC

Les techniques chromatographiques dont l'origine remonte à 1903 à la suite des travaux du Botaniste russe TSWETT sont universellement employées au laboratoire et dans l'industrie, aussi bien pour l'analyse proprement dite que pour la préparation et la purification de constituants.

Les progrès récents ne portant que sur une amélioration de la rapidité et de la spécificité des techniques ont abouti à la mise au point de la HPLC (10).

II – PARAMETRES DE VALIDATION D'UNE METHODE D'ANALYSE

La validation d'une méthode d'analyse a pour but de démontrer qu'elle conduit à des résultats attendus fiables et précis.

L'efficacité d'une méthode d'analyse est mise en évidence par l'évaluation des critères de validation qui sont :

- la spécificité,

La spécificité d'une méthode est la capacité de doser une substance à l'exclusion de tout autre.

- la linéarité de la courbe d'étalonnage,

La linéarité est la capacité d'une procédure à obtenir à l'intérieur d'un certain intervalle défini, des résultats directement proportionnels à la quantité de substance à examiner dans l'échantillon.

- l'exactitude,

L'exactitude exprime la proximité entre un résultat et sa valeur réelle ou présumée telle.

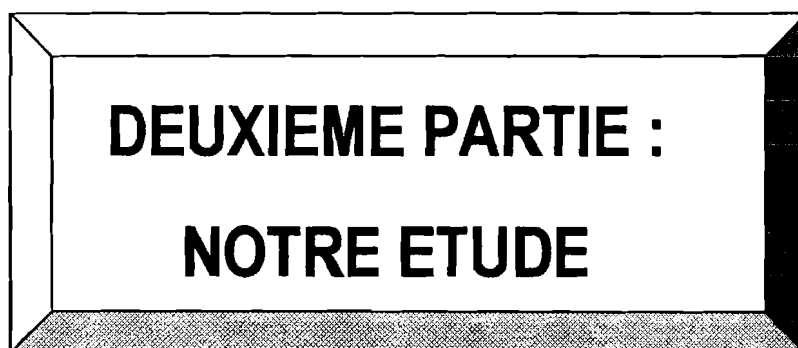
- la fidélité qui rend compte de la répétabilité et de la reproductibilité,

La répétabilité exprime la fidélité qui est l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites.

- la sensibilité,

- la limite de détection.

La limite de détection équivaut à la plus faible concentration détectable et intégrable. Cette limite est déterminée en appliquant l'analyse chromatographique à des dilutions successives de la solution mère.



DEUXIEME PARTIE :
NOTRE ETUDE

I – MATERIEL ET METHODES

I.1 – MATERIEL

I.1.1 – Cadre de l'étude

Notre étude s'est effectuée au laboratoire de CHIMIE ANALYTIQUE de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.

I.1.2 – Echantillonnage

Les échantillons des différentes marques de comprimés de chloroquine analysés ont été achetés dans les officines privées et à la Pharmacie de la Santé Publique de Côte d'Ivoire. Il s'agit de dix (10) échantillons de chloroquine dont sept (7) sont dosés à 100 mg/comprimé et trois (3) à 300 mg/comprimé et de six (6) échantillons de sirop :

- 1 – Nivaquine® comprimé dosé à 100 mg de chloroquine base des laboratoires RHONE-POULENC (CIPHARM Côte d'Ivoire) du lot 244 ; date d'expiration 06 – 2006
- 2 – Chloroquine® comprimé dosé à 100 mg de chloroquine base des laboratoires PHYTORIKER (GIHOC) lot D07536 ; date d'expiration 06 – 2005
- 3 – Ciphaquine® comprimé dosé à 100 mg de chloroquine base des laboratoires CIPHARM (Côte d'Ivoire) lot 097 ; date d'expiration 10 – 2006
- 4 – Chloroquine phosphate® comprimé dosé à 100 mg de chloroquine base des laboratoires MANEESH PHARMACEUTICALS PVT.LTD (INDIA) lot C 89 ; date d'expiration 04 – 2004
- 5 – Chloroquine 100® comprimé dosé à 100 mg de chloroquine base des laboratoires PIERRE FABRE (France) lot G299 ; date de fabrication 07 – 1998 ; date d'expiration 07 – 2003

- 6 – Chloroquine CREAT[®] comprimé dosé à 100 mg de chloroquine base des laboratoires CREAT (France) lot 127 ; date d'expiration 11 – 2002
- 7 – Maxipal[®] comprimé dosé à 100 mg de chloroquine base des laboratoires SMITHKLINE BEECHAM (Angleterre) lot 9001 NTF ; date de fabrication 10 – 1999 ; date d'expiration 09 – 2002
- 8 – Nivaquine[®] comprimé dosé à 300 mg de chloroquine base des laboratoires RHONE-POULENC (France) lot 44 MAN 10 00 ; date d'expiration 10 – 2003
- 9 – Aralen[®] comprimé dosé à 300 mg de chloroquine base
- 10 - Maxipal[®] comprimé dosé à 300 mg de chloroquine base des laboratoires SMITHKLINE BEECHAM (Angleterre) lot 9001 NTF ; date de fabrication 100 – 1999 ; date d'expiration 09 – 2002
- 11 – Nivaquine[®] sirop (flacon de 150 ml) dosé à 0,5% soit 25 mg/ 5 ml de chloroquine base des laboratoires RHONE-POULENC(France) lot 708 MAN 04 01 ; date d'expiration 04 – 2006
- 12 – Chloroquine[®] sirop (flacon de 60 ml) dosé à 1% soit 50 mg/ 5 ml de chloroquine base des laboratoires RHONE-POULENC RORER (Dakar) lot 8746 ; date d'expiration 03 – 2006
- 13 – Maxipal[®] sirop(flacon de 60 ml) dosé à 0,5% soit 25 mg/ 5 ml de chloroquine base des laboratoires SMITHKLINE BEECHAM (Angleterre) lot 1016 ; date de fabrication 08 – 2001 ; date d'expiration 07 – 2004
- 14 – Nivaquine DD[®] sirop(flacon de 60 ml) dosé à 1% soit 50 mg/ 5 ml de chloroquine base des laboratoires AVENTIS PHARMA (Dakar) lot 8951 ; date d'expiration 07 – 2003
- 15 – Chloroquine G[®] sirop(flacon de 90 ml) dosé à 0,3% soit 15,6 mg/5 ml de chloroquine base pour 5 ml de sirop des laboratoires GALEFOMY (Bouaké) lot 71 ; date d'expiration 09 – 2006
- 16 – Melubrin[®] sirop(flacon de 60 ml) dosé à 1,5% soit 75 mg/ 5 ml de chloroquine base des laboratoires RANBAXY (Inde) lot L00200E ; date de fabrication 12 – 2000 ; date d'expiration 11 – 2003

I.1.3 – Appareillage et verrerie

- Pipettes graduées (1 ml),
- Pipettes jaugées (1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml),
- Papier filtre,
- Micro seringue en verre,
- Balance de précision,
- Micro pipette (1000 ml) avec embout bleu,
- Fiole jaugée (1l, 2l, 500ml, 200ml, 100ml, 50ml, 20ml, 10ml),
- Buchner,
- HPLC ;
 - Une pompe,
 - Une vanne d'injection à bouche,
 - Un détecteur UV-Visible,
 - Un intégrateur,
 - Une pré-colonne,
- Etuve EMMERT,
- Dispositif de filtration sous vide,
- Agitateur,
- Mortier en porcelaine.

I.1.4 – REACTIFS, PRODUITS DE REFERENCE

Les réactifs utilisés sont :

Acide chlorhydrique 35% (PROLABO),

Tétraborate de sodium (PROLABO),

Méthanol pour CLHP (JT BAKER),

Potassium dihydrogenophosphate (PROLABO),

Acide orthophosphorique 85% (MERK),
Acide perchlorique 60% (FERAK),
Tétrabutyl bromure ammonium (PROLABO),
Chloroquine phosphate (CIPHARM).

I.2 – METHODES D'ANALYSE

I.2.1 – Préparation de l'échantillon

I.2.1.1 – Forme comprimé

Pour la préparation des solutions d'injection de la forme comprimé, il faut réaliser les opérations suivantes :

- peser les comprimés,
- écraser deux lots de 3 comprimés,
- prélever l'équivalent d'un comprimé en poids moyen,
- dissoudre dans l'eau distillée,
- faire des dilutions jusqu'à l'obtention d'une concentration variant de 1 à 5 µg/ml,
- faire les injections.

I.2.1.2 – Forme sirop

Certains sirops contiennent des grains, il faut les triturer et faire les opérations suivantes :

- faire des dilutions de deux sirops d'un même médicament jusqu'à l'obtention d'une concentration variant de 1 à 5 µg/ml pour chacun,
- faire les injections.

I.2.2 – Méthode de dosage

I.2.2.1 – Phase stationnaire

Colonne C18 (ODS), 5 μ m, 4,6mm, 250mm.

I.2.2.2 – Phase mobile

La phase mobile a pour composition :

* Tétrabutyl ammonium bromure	: 1,6g
* Méthanol pour CLHP	: 300 ml
* Tampon phosphate (pH = 3)	: 700 ml
* Acide perchlorique (pour ajuster le pH de la phase mobile à 3)	

La solution de tampon phosphate de pH=3 a pour composition :

* Potassium dihydrogenophosphate	: 19,1483g (0,14M)
* Eau distillée	: 500 ml
* Acide orthophosphorique	: 1,2 ml
* Eau distillée qsp	: 1000 ml

Le débit de la phase mobile est de 1 ml/ mn.

La longueur d'onde de détection est de 343 nm.

I.2.2.3 – Validation de la méthode d'analyse

La fiabilité des résultats de la méthode d'analyse va être démontrée par une étude de validation.

Les paramètres utilisés pour la validation de la méthode sont les suivants :

- ❖ la linéarité de la méthode,
- ❖ la répétabilité de l'analyse chromatographique,
- ❖ la limite de détection de la méthode.

1.2.2.3.1 – Linéarité de la méthode

L'étude de la linéarité a été faite sur une gamme étalon obtenue par dilution progressive de la solution mère et en déterminant les coefficients de corrélation et de détermination exprimant la relation entre les surfaces des pics obtenus et les concentrations de chloroquine base.

L'équation de la droite de régression et le domaine de linéarité seront ainsi définis.

1.2.2.3.2 – Répétabilité de la méthode

La répétabilité est démontrée par le calcul du coefficient de variation (CV) qui équivaut au pourcentage de l'écart entre une série de valeurs et la valeur moyenne :

$$CV = \frac{\sigma_{n-1}}{X} \cdot 100$$

- X : moyenne
- σ_{n-1} : écart-type
- n : nombre de mesure

$$X = \frac{\sum X_i}{n}$$

$$\sigma_{n-1} = \frac{\sum (X_i - X)^2}{n - 1}$$

La répétabilité a été étudiée sur l'analyse chromatographique en l'appliquant dix fois à deux concentrations du standard (0.8 et 2,5 μ g/ml)

I.2.2.3.3 – Limite de détection de la méthode

La limite de détection équivaut à la plus faible concentration détectable et intégrable. Cette limite est déterminée en appliquant l'analyse chromatographique à des dilutions successives de la solution mère.

I.3 – Traitement statistique

Le traitement statistique qui a consisté à la comparaison d'une moyenne calculée à celle d'une moyenne théorique a été fait avec le test de Student.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

II.1 – RESULTATS

Tableau I : Présentation de l'échantillonnage

Forme galénique	Dénomination	forme chimique
Cp	Nivaquine® (RHONE-POULENC CIPHARM Côte d'Ivoire)	sulfate
Cp	Chloroquine® (PHYTO RIKER GIHOC)	phosphate
Cp	Ciphaquine® (CIPHARM Côte d'Ivoire)	phosphate
Cp	Chloroquine phosphate® (MANEESH PVT.LTD INDIA)	phosphate
Cp	Chloroquine 100® (PIERRE FABRE France)	phosphate
Cp	Chloroquine CREAT® (France)	phosphate
Cp	Maxipal® (SMITHKLINE BEECHAM Angleterre)	phosphate
Cp	Nivaquine® (RHONE-POULENC France)	sulfate
Cp	Aralen®	phosphate
Cp	Maxipal® (SMITHKLINE BEECHAM Angleterre)	phosphate
Sirop	Chloroquine G® (GALEFOMY Bouaké)	phosphate
Sirop	Nivaquine® (RHONE-POULENC France)	sulfate
Sirop	Maxipal® (SMITHKLINE BEECHAM Angleterre)	phosphate
Sirop	Chloroquine® (RHONE-POULENC Dakar)	phosphate
Sirop	Nivaquine DD® (AVENTIS PHARMA Dakar)	sulfate
Sirop	Melubrin® (RANBAXY Inde)	phosphate

Seule la Nivaquine® est sous la forme sulfate, les autres sont sous la forme phosphate.

II.1.1 – validation de la méthode d'analyse

La chloroquine de référence utilisée est la forme phosphate en poudre des Laboratoires CIPHARM de Côte d'Ivoire.

II.1.1 – Linéarité de la méthode

Tableau II : Gamme étalon de la chloroquine

CONCENTRATION (µg/ml)	SURFACE
0,1	9321
0,2	37870
0,5	137345
0,8	228436
1	286464
2,5	739117
5	1483129

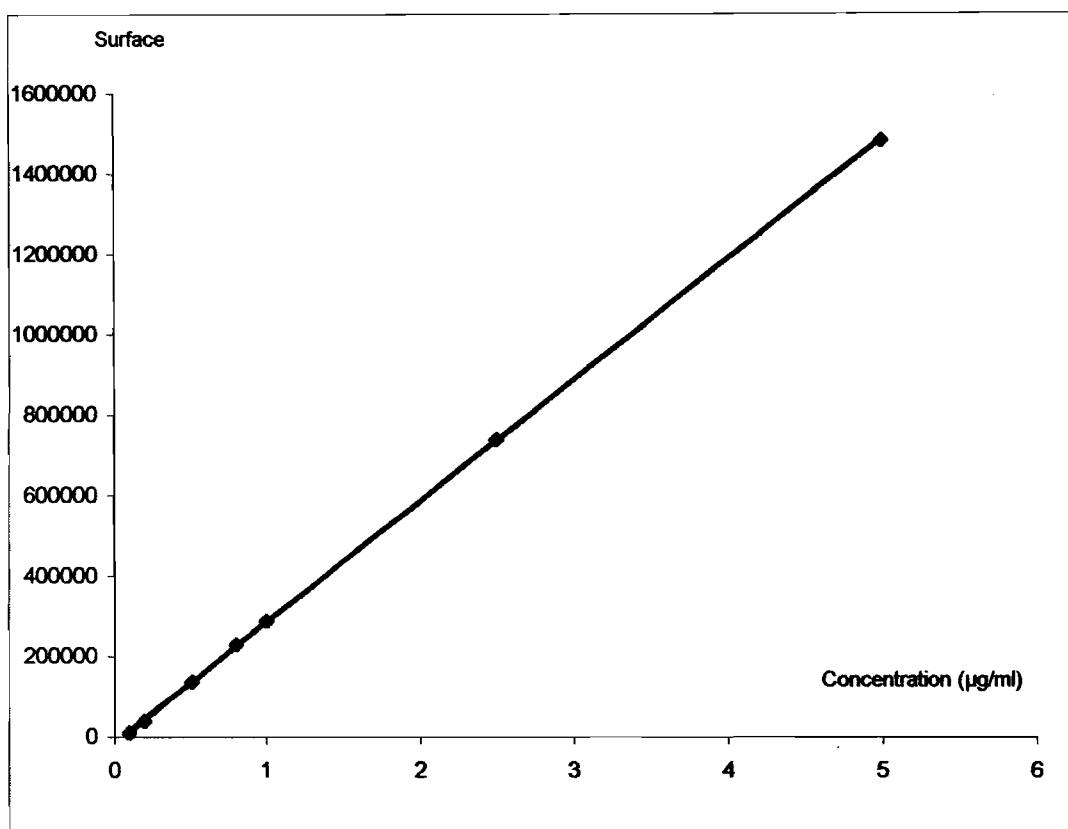


Figure 2 : Droite d'étalonnage

- Coefficient de corrélation : $r = 0.999965$
- Coefficient de détermination : $r^2 = 0.999930$
- Equation de la droite de régression :

$$y = 300490 x - 16181$$

x: concentration en µg/ml

y: surface des pics

II.1.1.2 – Répétabilité de la méthode

Tableau III : Répétabilité du standard (0,8µg/ml)

	SURFACE	CONCENTRATION (µg/ml)	MOYENNE (µg/ml)	σ_{n-1} (µg/ml)	CV (%)
1	234490	0,8342	0,8267	0,0157	1,90
2	234185	0,8332			
3	224471	0,8009			
4	233090	0,8295			
5	237897	0,8455			
6	232607	0,8279			
7	234725	0,8350			
8	227396	0,8106			
9	237552	0,8444			
10	225920	0,8057			

Tableau IV: Répétabilité du Standard (2.5 μ g/ml)

	SURFACE	CONCENTRATION (μ g/ml)	MOYENNE (μ g/ml)	σ_{n-1} (μ g/ml)	CV (%)
1	766063	2,6032	2,5625	0,0278	1,09
2	753962	2,5630			
3	761386	2,5877			
4	767104	2,6067			
5	749721	2,5488			
6	751556	2,5550			
7	741799	2,5225			
8	750658	2,5520			
9	747185	2,5404			
10	748777	2,5457			

Les coefficients de variation obtenus pour les concentrations 0.8 μ g/ml et 2,5 μ g/ml sont respectivement 1,90% et 1,09%.

II-1-1-3 limite de détection de la méthode

Tableau V : Evaluation de la limite de détection

CONCENTRATION ($\mu\text{g/ml}$)	SURFACE
5	1483129
1	286464
0,5	137345
0,1	9321
0,05	6012
0,01	1086
0,005	345
0,001	29
0,0005	-

La limite de détection de la Chloroquine est égale à $0.001\mu\text{g/ml}$

II.1.2 – Applications au dosage de la chloroquine dans les spécialités pharmaceutiques

Tableau VI : Teneur en chloroquine base des échantillons

Forme	Dénomination	Teneur déterminée	Ecart-type	t Student	Teneur affichée	comparaison
Cp	Nivaquine® (RHONE-POULENC CIPHARM Côte d'Ivoire)	102,28 mg/cp	4,46	0,51	100 mg/cp	NS
Cp	Chloroquine® (PHYTO RIKER GIHOC)	91,30 mg/cp	1,48	5,88	100 mg/cp	NS
Cp	Ciphaquine® (CIPHARM Côte d'Ivoire)	101,09 mg/cp	3,13	0,60	100 mg/cp	NS
Cp	Chloroquine phosphate® (MANEESH PVT.LTD INDIA)	98,41 mg/cp	5,36	0,51	100 mg/cp	NS
Cp	Chloroquine 100® (PIERRE FABRE France)	115,65	2,17	7,20	100 mg/cp	NS
Cp	Chloroquine CREAT® (France)	98,13 mg/cp	5,24	0,62	100 mg/cp	NS
Cp	Maxipal® (SMITHKLINE BEECHAM Angleterre)	96,37 mg/cp	1,43	2,53	100 mg/cp	NS
Cp	Nivaquine® (RHONE-POULENC France)	298,20 mg/cp	26,28	0,07	300 mg/cp	NS
Cp	Aralen®	359,65 mg/cp	12,52	4,76	300 mg/cp	NS
Cp	Maxipal® (SMITHKLINE BEECHAM Angleterre)	324,79 mg/cp	13,11	1,89	300 mg/cp	NS
Sirop	Chloroquine G® (GALEFOMY Bouaké)	16,34 mg/5ml	1,03	0,72	15,6 mg/5ml	NS
Sirop	Nivaquine® (RHONE-POULENC France)	26,94 mg/5ml	1,09	1,78	25 mg/5ml	NS
Sirop	Maxipal® (SMITHKLINE BEECHAM Angleterre)	27,88 mg/5ml	1,41	2,05	25 mg/5ml	NS
Sirop	Chloroquine® (RHONE-POULENC Dakar)	49,91 mg/5ml	3,28	0,05	50 mg/5ml	NS
Sirop	Nivaquine DD® (AVENTIS PHARMA Dakar)	52,20 mg/5ml	2,17	1,76	50 mg/5ml	NS
Sirop	Melubrin® (RANBAXY Inde)	78,47 mg/5ml	9,56	0,36	75 mg/5ml	NS

Nombre d'échantillon par médicament : $n = 2$

Degré de liberté : $V = 1$

$t_{\alpha,0,05} = 12,04$

Le t Student calculé est inférieur à $t_{\alpha,0,05}$ pour tous les échantillons.

II-2 – COMMENTAIRE ET DISCUSSION

II.2.1 – Validation de la procédure d'analyse

La validation de la méthode d'analyse a été menée avec des critères du guide de validation analytique établis par une commission de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (S.F.S.T.P.) dans le but d'aider les industriels à valider leur procédure d'analyse(2). Les différents résultats de l'étude de validation montrent que la méthode d'analyse est performante.

Les coefficients de corrélation et de détermination entre les concentrations et les surfaces des pics correspondantes, respectivement de 0.9999 et de 0.9999 sont proches de 1 donc satisfaisants, ce qui indique qu'il existe une proportionnalité entre la surface des pics et la concentration en Chloroquine base.

Cette proportionnalité est représentée par la droite d'étalonnage dont l'équation est :

$$y = 300490 x - 16181$$

On déduit de cette équation que le domaine de linéarité est compris entre 0,1 µg/ml et 5µg/ml.

Les coefficients de variation obtenus pour les concentrations 0.8µg/ml et 2,5µg/ml sont respectivement 1,90% et 1,09%. Ces valeurs sont inférieures à 2% (valeur généralement admise en analyse quantitative).

II.2.2 – Application

L'étude des différents paramètres de validation montre que la méthode d'analyse de la chloroquine donne des résultats précis et fiables, et donc peut être appliquée au dosage de la chloroquine dans les spécialités et génériques pharmaceutiques.

Le dosage de la forme phosphate par l'HPLC donne la même réponse que celle de la forme sulfate. Nous avons donc appliqué la même technique pour le dosage des deux formes.

Après comparaison des teneurs en chloroquine calculées à celles théoriques fournies par les fabricants, nous avons constaté que les t de Student calculés sont inférieurs à la valeur théorique qui est $t_{\alpha,0,05} = 12,04$ pour $n = 2$ (ou degré de liberté = 1). Nous pouvons donc affirmer que les teneurs en chloroquine base des seize (16) échantillons sont normales. Mais il serait encore plus intéressant d'augmenter le nombre d'échantillons à analyser. Il convient tout de même de répéter le dosage de la Chloroquine[®] (PHYTO RIKER GIHOC) et de la Chloroquine 100[®] (PIERRE FABRE France) car les t -Student calculés sont élevés par rapport aux autres.

Par ailleurs, notre étude nous a permis de découvrir que certains sirops n'ont pas le même dosage mais la posologie appliquée est la même. C'est le cas des sirops de Nivaquine[®] et de Chloroquine G[®].

En effet, compte tenu de l'existence de chloroquinorésistance, les posologies des médicaments doivent être bien respectées. Contrairement aux comprimés, les différents titres des sirops ne sont pas bien maîtrisés par la population si bien que beaucoup d'erreurs peuvent être commises en automédication ou par un personnel qualifié. Un exemple d'inconvénient est de remplacer le sirop de Nivaquine[®] par le sirop de Chloroquine G[®] et d'appliquer la même posologie. Afin d'éviter des erreurs posologiques pouvant conduire à une chloroquinorésistance ou à une intoxication, nous proposons à titre indicatif le tableau (VII) posologique ci-dessous.

Les chiffres du tableau VII représentent les prises pour une posologie de 10 mg/kg par jour.

Dans le cas des sirops dosés à 75 mg/cc et 15,6 mg/cc, il serait plus intéressant de disposer d'un système adéquat de prélèvement des sirops pour une meilleure maîtrise des posologies.

Tableau VII : nombre de cuillérées à café par jour en fonction du poids de l'enfant et du titre du sirop

	25 mg/cc	50 mg/cc	75 mg/cc	15,6 mg/cc
0 à 6 mois ou < 6 kg (5 kg)	2	1	-	3
6 à 9 mois ou 6 - 8 kg (7,5 kg)	3	1,5	1	5
9 à 12 mois ou 8 - 10 kg (10 kg)	4	2	-	6,5
1 à 2 ans ou 10 à 12 kg (12 kg)	5	2,5	1,5	8
2 à 3 ans ou 12 à 15 kg (15 kg)	6	3	2	9,5
3 à 4 ans ou 15 à 18 kg (17,5 kg)	7	3,5	-	11
4 à 5 ans ou 18 à 20 kg (20 kg)	8	4	2,5	13

La posologie en vigueur est :

- 10 mg/kg le 1^{er} jour
- 10 mg/kg le 2^{ème} jour
- 5 mg/kg le 3^{ème} jour

NB : Les nombres de cuillérées indiquées dans le tableau correspondent précisément au poids mis entre les parenthèses. Il faut toujours suivre la posologie du médecin traitant.

CONCLUSION

L'étude des différents paramètres de validation montre que la méthode d'analyse de la chloroquine donne des résultats précis et fiables avec un coefficient de corrélation de **0,9999**, un coefficient de variation **inférieur à 2%** et une limite de détection de **0,001 µg/ml**.

L'application au dosage des spécialités et des génériques de chloroquine a confirmé des teneurs normales en chloroquine base. Une insistance particulière doit être faite auprès du personnel médical et paramédical (le personnel des officines privées) pour les posologies des sirops en fonction du titre et du poids de l'enfant.

Avec l'avènement des génériques médicamenteux, un dosage des principes actifs doit être fait régulièrement et de façon aléatoire pour garantir la santé de la population et réduire ainsi la survenue de résistance ou d'intoxication.

En somme, nous allons proposer le laboratoire de Contrôle de Qualité de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques aux autorités compétentes du médicament, des produits cosmétiques et aux consommateurs pour éventuellement une expertise ou une contre expertise.

BIBLIOGRAPHIE

1 – AIACHE J. M ; AIACHE S. ; RENOUX R.

Initiation à la connaissance du médicament.
Abrégé de Pharmacie.
Ed. Masson, Paris, 1989, 258 p.

2 – CHAMINADE P., FERAUD S., BAILLET A., FERRIER D.

Validation d'une méthode analytique de dosage par HPLC : test de robustesse et validation de la méthode.
S.T.F., Pharma. Pratiques, 1995, 5 (1), 17-35.

3 – DIA FATOUMATA

Intoxications médicamenteuses: enquête au CHU de Cocody et étude du cas particulier de la chloroquine.
Th. Pharm., Abidjan, 1996.

4 – GNP 2000

Encyclopédie pratique du médicament.
Ed. Vidal Concepts, 2000, 900-902.

5 – GUSTAFSSON L., ROMBO L., ALVAN G. et al

On the question of dose- dependent chloroquine elimination of a single dose.
Clin Pharmacol Ther 1983; 34: 383-5.

6 – GUSTAFSSON L., WALKER O.,ALVANE et al.

Disposition of chloroquine in man after single intravenous and oral doses.
Clin Pharmacol Ther 1983; 15: 471-479.

7 – KOPPEL C., TENCZER J., IBE K.

Urinary metabolism of chloroquine.
Drug Res, 1987, 37, 208-211.

8 – LESPAGNOL A.

Chimie des médicaments.
Paris : EME- Technique et documentation, 1975, Tome II: 446.

9 – LOUIS F.J., BAUDON D., MARTET G.

Faut-il modifier les programmes nationaux de lutte contre le paludisme ? Des questions et des réponses.

Malaria, 1997,(6). 20-23.

10 - LINDEN G.

Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires :

Principes des techniques d'analyse.

Technique et Documentation, APRIA, Paris, 1981, 2, 59 – 95.

11 - MAHUZIER G. , HAMON M.

Abrégé de chimie analytique : Méthodes de séparation.

Ed MASSON, Paris, 2^e édition : 1986 ; tome II, 262 p.

12 – MOUCHET J., CARNEVALE P.

Les vecteurs et la transmission.

In M. Danis, J. Mouchet.

Paludisme.

Ellipses, Paris, 1991, 35 – 39.

13 – PHARMACOPEE FRANCAISE

X^{ème} EDITION.

volume II, 1996.

14 - ROSSET R. , CAUDE M. , JARDY A.

Manuel pratique de chromatographie en phase liquide.

Ed. MASSON, Paris, 2^e Edition, 1982, 374 p.

15 – WERY M.

Diagnostic biologique.

In : Danis M., Mouchet J. paludisme.

Ellipses, Paris, 1991, 111-127.