

Manual

Para usuarios del GPHF-Minilab™

Suplemento 2015

Volumen II

ENSAYOS CON CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA



Una iniciativa sin ánimo de lucro
fundada y patrocinada por
Merck, Darmstadt · Alemania



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

SUPLEMENTO 2015 AL VOLUMEN II DE ENSAYOS CON CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Autores

Richard W. O. Jähne y Kornelia Dwornik

* * *

Revisado por

Adrian Bajoras, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Kennedy Chibwe, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, Mustapha Hajjou, Lukas Roth, Patrick Lukulay y Souly Phanouvong

* * *

Publicado por

El Global Pharma Health Fund (GPHF), una iniciativa sin ánimo de lucro fundada y patrocinada por Merck Darmstadt · Alemania, y el programa de Promoción de la Calidad de Medicamentos de Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (U.S. Pharmacopeia's Promoting the Quality of Medicines programme - USP PQM)

* * *

Copyright © de GPHF & USP PQM

* * *

Agradecimientos

La publicación de éste suplemento ha sido posible gracias al generoso apoyo del pueblo de los Estados Unidos de Norteamérica a través de la Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos de Norteamérica (USAID). Las organizaciones de asistencia internacional GPHF y USP PQM son las responsables del contenido, el cual no necesariamente refleja las opiniones de la Agencia USAID o del Gobierno de los Estados Unidos de Norteamérica.

* * *

Acerca del proyecto GPHF-Minilab™

La proliferación de medicamentos falsificados constituye una seria amenaza para la salud. La Organización Internacional de Policía Criminal (Interpol) estima que una inquietante proporción de 10 a 30 por ciento de todos los medicamentos ofrecidos en los países subdesarrollados y en vía de desarrollo son falsificaciones o presentan deficiencias de calidad. Combatir dichas falsificaciones, asegura que las décadas de trabajo y medios invertidos en el sector de la salud no se pierdan a causa de control y vigilancia insuficientes.

Para evitar que las organizaciones responsables del aprovisionamiento de los medicamentos y los programas prioritarios para el combate de enfermedades como la malaria, la tuberculosis y el VIH/SIDA en países endémicos sean infiltrados con fármacos falsificados o de baja calidad, el Global Pharma Health Fund (GPHF), una organización caritativa fundada y patrocinada exclusivamente por Merck Darmstadt · Alemania, con sede en la ciudad alemana de Francfort, ha dedicado sus esfuerzos a desarrollar y suministrar a bajo costo el GPHF-Minilab™, un minilaboratorio para la rápida verificación de la calidad y detección de medicamentos falsificados.

Desde hace largo tiempo, los minilaboratorios GPHF-Minilab™ han venido actuando como primera línea de defensa contra los medicamentos falsificados y de baja norma, que amenazan la salud de millones de habitantes de los países subdesarrollados y en vía de desarrollo. Hasta la fecha un total de más de 680 minilaboratorios han sido suministrados en más de 90 países de África, la región del Pacífico, Asia y Latinoamérica.

Los socios más importantes para la implementación del minilaboratorio son los servicios nacionales de salud y las agencias nacionales de medicamentos junto con la Organización Mundial de la Salud y el programa de ayuda técnica de Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (U.S. Pharmacopeia's Promoting the Quality of Medicines Program - USP PQM). Recientemente, los programas conjuntos de control de calidad de medicamentos llevados a cabo en el sureste de Asia y el éste de África dispararon la confiscación por parte de Interpol de millones de pastillas falsificadas sin contenido alguno de agentes activos para el tratamiento de la malaria.

La necesidad de los países de bajos ingresos de disponer de un sistema de control de calidad para medicamentos económico y sin sofisticaciones innecesarias persiste y es el motor que impulsa en la actualidad el desarrollo de nuevos protocolos de ensayo para el GPHF-Minilab™. La necesidad de aumentar el volumen de ensayos es también el punto de partida para la intensificación de la colaboración con nuestros socios de los Estados Unidos. Todas las entidades y organizaciones de asistencia internacionales interesadas en mejorar la seguridad y la salud de los pacientes en los países en vía de desarrollo están invitadas a formar parte de la iniciativa.

* * *

Diseño e impresión: Grimm Grafik Design, Ochsenfurt, Alemania

Capítulo	Página
Nuevos Procedimientos Individuales de Ensayo con Cromatografía	4
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 6</i> <i>Medicamentos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y la salud reproductiva</i>	
6.80 Atenolol.....	4
6.81 Bisoprolol fumarato incl. formulaciones combinadas con hidroclorotiazida	8
6.82 Captopril incl. formulaciones combinadas con hidroclorotiazida	12
6.83 Clomifeno citrato.....	16
6.84 Hidroclorotiazida incl. formulaciones combinadas comunes.....	20
Cuadro de Resumen de Procedimientos de Ensayo con Cromatografía	24
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 7</i>	
Listado Actualizado de Estándares de Referencia para el GPHF-Minilab™	25
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 10</i>	
Salud & Seguridad.....	27

6.82 Captopril incl. formulaciones combinadas con hidroclorotiazida

Identificación primaria por medio de la inspección física y del ensayo de disgregación

I. INSPECCIÓN FÍSICA

Buscar las deficiencias en el etiquetado, el envase y en las formas farmacéuticas, tal y como se describe en los capítulos sobre métodos y operaciones generales en el manual principal. Usar el formulario de reporte como guía para anotar cualquier particularidad del producto. Los comprimidos o cápsulas contienen por lo regular 12.5, 25, 50 o 100 mg de captopril. Se conoce la existencia de otras potencias. Frecuentemente, los comprimidos de captopril pueden ir combinados con hidroclorotiazida.

II. ENSAYO DE DISGREGACIÓN

Todos los comprimidos y cápsulas de liberación rápida de captopril deben pasar el ensayo de disgregación, tal y como está descrito en los capítulos sobre métodos y operaciones generales en el manual principal. Deberán disgregarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si el producto no pasa esta prueba, esto constituye un signo de deficiencia importante.

III. RESULTADOS & MEDIDAS A TOMAR

Los productos farmacéuticos adquiridos a precios extremadamente bajos o para los cuales los documentos acompañantes faltan o no son los correctos, así como aquellos con defectos en su forma farmacéutica, defectos en el envase o con etiquetas incompletas, dañadas o que faltan; o con las etiquetas escritas en otros idiomas, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatografía en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad a través del ensayo con cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

Puro o en combinación con hidroclorotiazida, el captopril se extrae de comprimidos y cápsulas con metanol y se verifica con cromatografía en capa fina (CCF) con referencia a un estándar secundario adecuado.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- 1) Pistilo
- 2) Papel aluminio
- 3) Embudo
- 4) Cinta adhesiva
- 5) Rotulador
- 6) Lápiz y regla
- 7) Viales de 10 ml
- 8) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml)
- 9) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml)
- 10) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F₂₅₄, tamaño 5 x 10 cm
- 11) Microcapilares de vidrio (2-µl de capacidad)
- 12) Cámara de revelado para CCF (frasco de 500 ml)
- 13) Plancha
- 14) Papel de filtro
- 15) Tijeras
- 16) Pinza
- 17) Luz ultravioleta de 254 nm
- 18) Cámara de manchado con yodo
- 19) Metanol
- 20) Tolueno
- 21) Ácido acético puro
- 22) Estándar de referencia, por ejemplo comprimidos de 50 mg de captopril

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como referencia, por ejemplo, comprimidos con contenido de 50 mg de captopril. Se envuelve un comprimido usado como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando el pistilo. Se desocupa cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 40 ml y se enjuagan todos los residuos sólidos con 25 ml de metanol, utilizando la pipeta graduada adecuada. Se cierra el frasco y se agita por unos tres minutos, hasta que se haya disuelto la mayor parte de los sólidos. Se deja reposar la solución por unos cinco minutos más, para que los residuos no disueltos se asienten en el fondo del frasco. La solución obtenida debe contener un total de 2 mg de captopril por ml y se rotula 'Solución madre del estándar de captopril'. La solución se prepara fresca para cada ensayo. Se continúa el trabajo con el líquido claro o turbio sobrenadante.

IV. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE TRABAJO AL 100% (LÍMITE DE CONCENTRACIÓN SUPERIOR)

La solución madre del estándar no requiere de dilución posterior, habiendo alcanzado la concentración superior de trabajo de 2 mg de captopril por ml. Para un manejo más conveniente, se puede transferir un poco del líquido sobrenadante a un vial de 10 ml.

Ésta solución estándar de trabajo representa un fármaco de buena calidad con un contenido de 100% de captopril.

V. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE TRABAJO AL 80% (LÍMITE DE CONCENTRACIÓN INFERIOR)

Se pipetea 4 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añade 1 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener un total de 1.6 mg de agente activo por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de captopril al 80%'.

Ésta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad, con contenido de captopril de solo 80% de lo indicado en la etiqueta. En la investigación actual, éste nivel de contenido de fármaco representa el límite de concentración inferior aceptable de agente activo.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 12.5 MG DE CAPTOPRIL POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa de las muestras recogidas durante el trabajo de campo. De acuerdo con el procedimiento usual, los comprimidos se envuelven en papel aluminio y se trituran hasta obtener un polvo fino. Se transfiere todo el polvo obtenido a un frasco de laboratorio de 25 ml. Para el caso de las cápsulas, se desocupa primero el polvo contenido en la cápsula de muestra, seguido de la tapa y el cuerpo, directamente en el frasco. Para la extracción se añaden 6.25 ml de metanol utilizando la pipeta graduada apropiada. Se tapa el frasco y se agita por unos tres minutos, hasta que la mayor parte de los sólidos se haya disuelto. Se deja reposar la solución por unos cinco minutos más, hasta que los residuos que no se hayan disuelto queden asentados en el fondo del frasco.

25 MG DE CAPTOPRIL POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 12.5 ml de metanol. Se continúa trabajando de la forma descrita anteriormente.

50 MG DE CAPTOPRIL POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 25 ml de metanol. Se continúa trabajando de la forma descrita anteriormente.

100 MG DE CAPTOPRIL POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 50 ml de metanol. Se continúa trabajando de la forma descrita anteriormente.

Como agente activo único o en combinaciones con hidroclorotiazida, todas las soluciones madre producidas deberán contener finalmente un total de 2 mg de captopril por ml y rotularse 'Solución madre de la muestra de captopril'. Las soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Se continúa el trabajo con los líquidos claros o turbios sobrenadantes.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Las soluciones madre de las muestras de captopril no requieren de dilución posterior, ya que representan la concentración final de 2 mg de captopril por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de captopril de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de captopril de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LOS PUNTOS

Se traza una línea de origen paralela a una distancia de 1.5 cm del extremo inferior de la placa cromatográfica y se aplican con los microcapilares suministrados 2 μ l de la solución de ensayo y del estándar como se indica en la fotografía.

Hasta cinco puntos se pueden aplicar sobre una placa. Compruébese la uniformidad de los puntos utilizando luz ultravioleta de 254 nm. Aunque el captopril por sí mismo permanezca invisible, los excipientes y demás componentes del medicamento se harán visibles para facilitar la identificación. Todos los puntos deberán tener forma circular y ser aplicados equidistantes sobre la línea de origen. Aunque las intensidades puedan diferir, los diámetros nunca deben hacerlo. Las diferencias de intensidad se deben a las diferentes cantidades de excipientes residuales y a las diferentes concentraciones o combinaciones de agentes activos en las soluciones de muestra. Una diferencia en el tamaño de los diámetros es resultado de un deficiente procedimiento de aplicación. Por lo tanto, se deberá repetir el procedimiento hasta que el diámetro de los puntos sea homogéneo.

IX. REVELADO DE LA PLACA CROMATOGRÁFICA

Se pipetea 15 ml de tolueno, 5 ml de ácido acético puro y 1 ml de metanol al frasco a utilizarse como cámara de revelado. Se tapa la cámara y se mezcla muy bien. Se recubre la pared de la cámara con papel filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar la saturación de la cámara con el vapor del solvente. Cuidadosamente se coloca la placa CCF cargada en el frasco. Se cierra el frasco y se revela la placa cromatográfica hasta que el frente del solvente haya cubierto aprox. las tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo requerido para el revelado de unos 10 minutos. Se retira la placa de la cámara, se marca la línea del frente del solvente y se permite la evaporación del excedente de solvente, utilizando una plancha caliente de ser necesario.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca por completo el solvente residual y se expone la placa cromatográfica a los vapores de yodo por aprox. un minuto. Se retira la placa de la cámara de manchado con yodo y se observa primero a la luz del día, y luego bajo luz ultravioleta de 254 nm con la lámpara de pilas suministrada. El procedimiento se utiliza tanto para la identificación del captopril, como para su valoración cuantitativa.

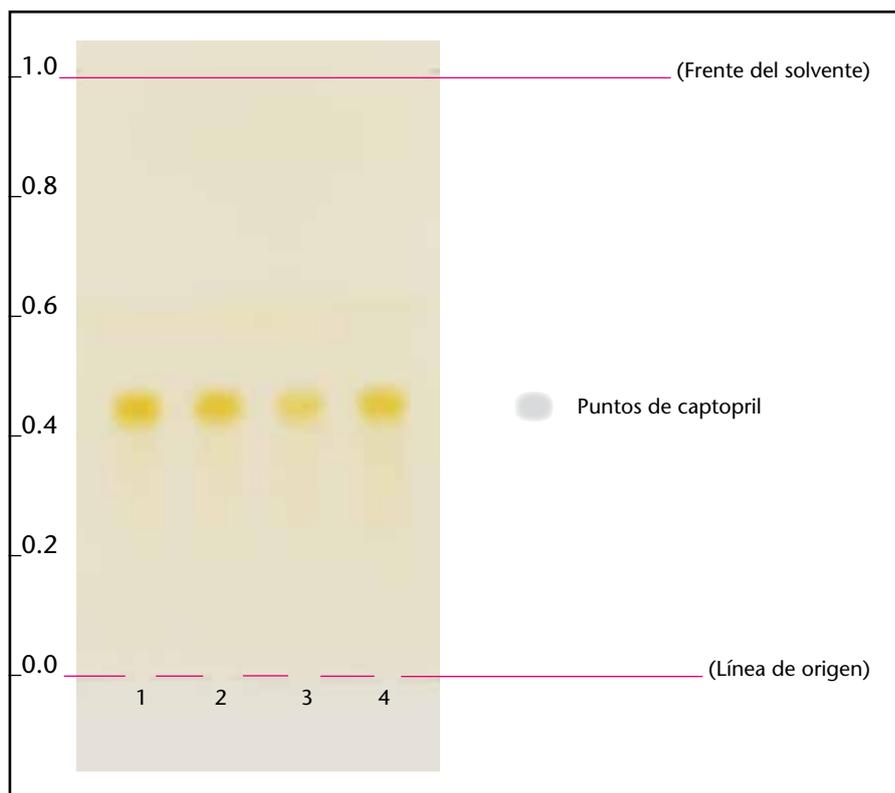
XI. PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON YODO

Recorrido No. 1:
Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de captopril

Recorrido No. 2:
Fármaco de buena calidad con contenido aceptable de captopril

Recorrido No. 3:
Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable de captopril

Recorrido No. 4:
Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de captopril



XII. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

El captopril mismo permanece invisible y no deben detectarse otros puntos, a no ser que el medicamento investigado sea un producto de fórmula combinada. En este caso se observará cerca de la línea de origen un punto de color azul violáceo intenso a una distancia de recorrido de aprox. 0.08 que indica la presencia de hidroclorotiazida en la solución de ensayo.

XIII. OBSERVACIONES HECHAS A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON YODO

Un punto de color naranja-marrón intenso a una distancia de recorrido de aprox. 0.44 indica la presencia de captopril en la solución de ensayo. La hidroclorotiazida en productos combinados no se hará visible en éste punto. Se continúa observando la placa conforme se va evaporando el yodo. Los puntos representando los productos de baja calidad irán desapareciendo gradualmente primero, seguidos por los puntos de referencia que representan un contenido de agente activo del 80% y 100%, respectivamente.

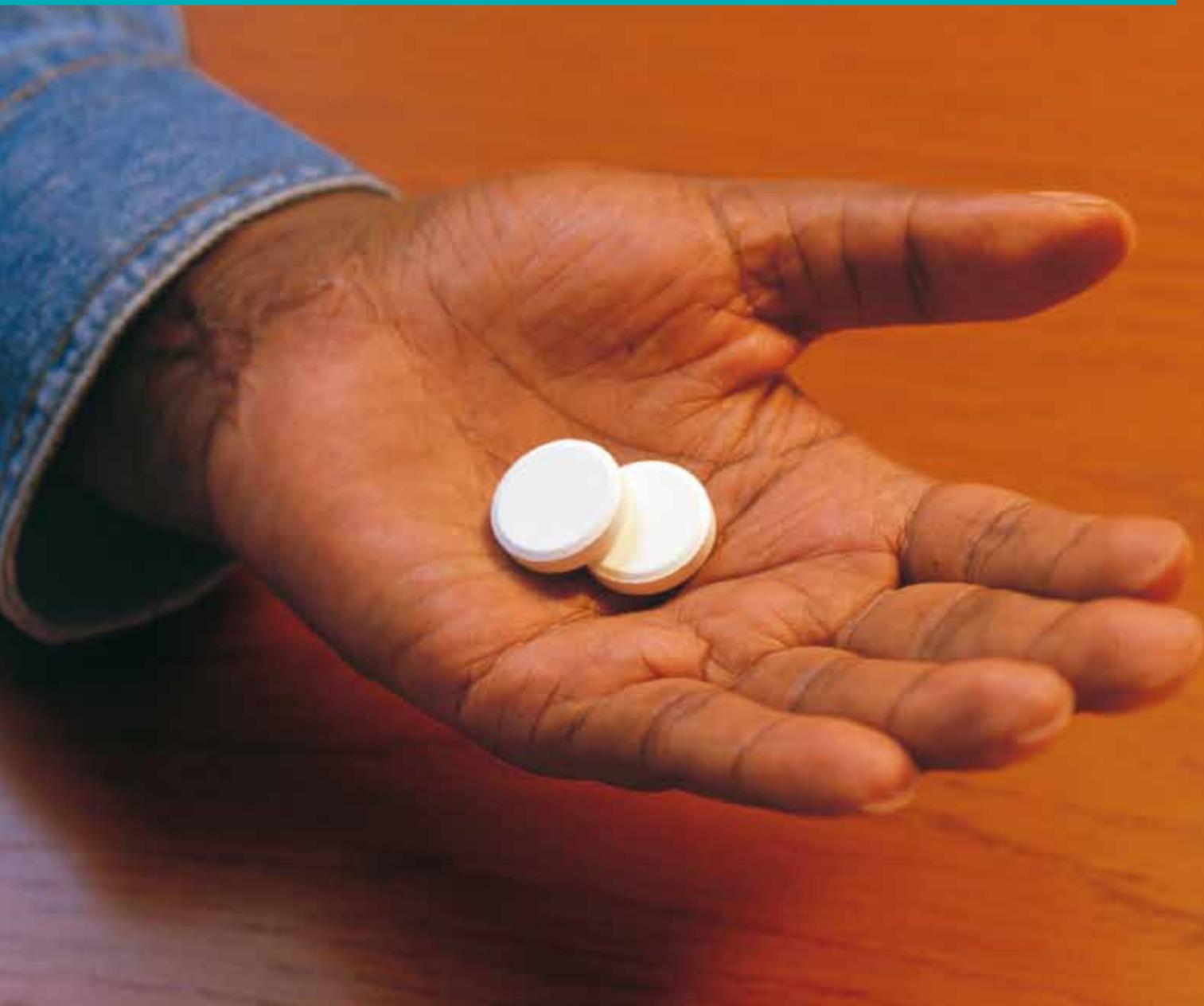
XIV. OBSERVACIONES HECHAS BAJO LUZ UV DE 254 NM TRAS EL MANCHADO CON YODO

Al exponer la placa manchada con yodo a la luz ultravioleta de 254 nm, todos los puntos de captopril observados a la luz del día tras el manchado con yodo se harán más intensos. Puntos adicionales generados por la solución de ensayo indicarán la presencia de hidroclorotiazida, otros agentes activos o una degradación del captopril, éste último caso siendo el más probable de ir asociados a un punto principal de menor tamaño. Un punto principal de menor tamaño generado por la solución de ensayo también puede indicar un bajo contenido de captopril y de no aparecer punto alguno, la ausencia total de captopril. Los agentes auxiliares incorporados a las diferentes formulaciones de los comprimidos o cápsulas pueden generar débiles puntos adicionales a lo largo del recorrido del frente del solvente o cerca a o sobre la línea de origen.

XV. RESULTADOS & MEDIDAS A TOMAR

El punto de captopril en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido al obtenido con el cromatograma de las soluciones estándar alta y baja. Éste resultado debe obtenerse con cada método de detección. Si ese no es el caso, se debe repetir el ensayo desde el principio con una segunda muestra. El lote se rechaza, si el contenido de fármaco no puede verificarse al tercer ensayo. Para la verificación del contenido exacto de agente activo, se refieren muestras adicionales a un laboratorio profesional de control de calidad de fármacos. Las muestras se retienen y el lote se pone en cuarentena hasta que se haya tomado una decisión final respecto a liberar o rechazar el producto. Con el fin de documentar los ensayos, se fotografían todos los resultados con una cámara digital con la luz de flash desactivada.

Auténtico o falsificado?



Luchando contra los medicamentos falsificados · Protegiendo la vida



Una iniciativa sin ánimo de lucro
fundada y patrocinada por
Merck, Darmstadt · Alemania

Global Pharma Health Fund
Frankfurt, Alemania
Tel. +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
Tél. +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
Tél. +1-301-816-8162
Fax +1-301-816-8374
pqm@usp.org · www.pqmusp.org