

Manual

Para usuarios del GPHF-Minilab™

Suplemento 2017

Volumen II

ENSAYOS CON CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA



Una iniciativa sin ánimo de lucro fundada y patrocinada por Merck



El programa de Promoción de la Calidad de Medicamentos „Promoting the Quality of Medicines„ (PQM), financiado por la Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos de Norteamérica „U.S. Agency for International Development“ (USAID), es implementado por la Convención Farmacopea Estadounidense „U.S. Pharmacopeial Convention“ (USP).

SUPLEMENTO 2017 AL VOLUMEN II DE ENSAYOS CON CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Autores

Richard W. O. Jähne y Kornelia Dwornik

* * *

Revisado por

Sanford Bradby, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, Mustapha Hajjou, Víctor Pribluda, Lukas Roth y Souly Phanouvong

* * *

Publicado por

El Global Pharma Health Fund (GPHF), una iniciativa sin ánimo de lucro fundada y patrocinada por Merck (Alemania), y el programa de Promoción de la Calidad de Medicamentos (PQM) implementado por la Convención Farmacopea Estadounidense „U.S. Pharmacopeial Convention“ (USP).

* * *

Copyright © de GPHF & 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 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, 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 750 minilaboratorios han sido suministrados en más de 90 países de África, la región del Pacífico, Asia y Latinoamérica. La gama de agentes activos a analizar se ha ido aumentando gradualmente con el fin de abarcar también los medicamentos para el tratamiento de enfermedades no contagiosas y los destinados al cuidado de la salud de las madres y sus hijos.

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 esenciales para el tratamiento de enfermedades infecciosas y cardiovasculares</i>	
6.91 Amlodipino.....	4
Comprimidos y cápsulas incl. formulaciones combinadas con hidroclorotiazida, atenolol, enalapril, lisinopril y perindopril arginina	
6.92 Cefpodoxima proxetil.....	8
Comprimidos y cápsulas	
6.93 Clorhexidina.....	12
Como sal de gluconato en soluciones y geles de uso externo incl. formulaciones combinadas con cetrimida	
6.94 Dapsona.....	16
Comprimidos y cápsulas	
6.95 Evafirenz.....	20
Comprimidos y cápsulas incl. formulaciones combinadas con lamivudina, tenofovir y emtricitabina	
6.96 Nevirapina (Actualizada).....	24
Comprimidos, cápsulas y suspensiones incl. formulaciones combinadas con zidovudina, lamivudina y estavudina	
Cuadro de Resumen de Procedimientos de Ensayo con Cromatografía.....	28
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 7</i>	
Listado Actualizado de Estándares de Referencia para el GPHF-Minilab™.....	29
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 10</i>	
Salud & Seguridad.....	31

6.95 Efavirenz

Primer cribado 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. Por lo regular, cada comprimido o cápsula contiene 50, 100, 200 o 600 mg de efavirenz. Efavirenz es frecuentemente combinada con fumarato de disoproxilo de tenofovir y una tercera compuesto es lamivudina o emtricitabina.

II. ENSAYO DE DISGREGACIÓN

Puro o en combinación con otros agentes activos, todos los comprimidos y cápsulas de liberación rápida de efavirenz 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 otros medicamentos, efavirenz se extrae de comprimidos y cápsulas con metanol y se verifica con cromatografía en capa fina (CCF) con referencia a un estándar secundario adecuado. El método es también apto para el empleo incluso cuando efavirenz es combinado con tenofovir y emtricitabina o tenofovir y lamivudina. Para la verificación de la identidad y el contenido de lamivudina vaya al protocolo de ensayo apropiado en la página 112 del manual principal. El protocolo de ensayo de lamivudina es todavía válido incluso cuando lamivudina viene combinado con efavirenz y tenofovir.

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) Metanol
- 19) Tolueno
- 20) Acetato de etilo
- 21) Estándar de referencia, por ejemplo comprimidos de 50 mg de efavirenz

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, cápsulas con contenido de 50 mg de efavirenz. Se parte la cápsula con cuidado y se transfiere todo el contenido a un frasco de laboratorio de 25 ml añadiendo ultimamente la funda protectora vacía de la cápsula. Para la extracción, se suspende el polvo obtenido en 5 ml de metanol utilizando una pipeta graduada. 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 10 mg de efavirenz por ml y se rotula 'Solución madre del estándar de efavirenz'. 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)

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 9 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener un total de 1 mg de efavirenz por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de efavirenz al 100%'.

Esta solución estándar de trabajo representa un fármaco de buena calidad con un contenido de 100% de efavirenz.

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

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 25 ml y se añaden 11.5 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener un total de 0.8 mg de agente activo por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de efavirenz al 80%'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad, con contenido de efavirenz de solo 80% de lo indicado en la etiqueta. En la investigación actual, este 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 50 MG DE EFAVIRENZ 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 5 ml de metanol utilizando la pipeta graduada apropiada. Se cierra 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 no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

100 MG DE EFAVIRENZ POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 10 ml de metanol utilizando la pipeta graduada apropiada y un frasco de laboratorio de 25 ml. Se continúa trabajando de forma descrita anteriormente.

200 MG DE EFAVIRENZ POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 20 ml de metanol utilizando la pipeta graduada apropiada y un frasco de laboratorio de 25 ml. Se continúa trabajando de forma descrita anteriormente.

600 MG DE EFAVIRENZ POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 60 ml de metanol utilizando la pipeta graduada apropiada y un frasco de laboratorio de 100 ml. Se continúa trabajando de forma descrita anteriormente.

Todas las soluciones madre producidas, también a partir de productos combinados, deberán contener finalmente un total de 10 mg de efavirenz por ml y rotularse 'Solución madre de la muestra de efavirenz'. 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

Se pipeta 1 ml de la solución madre de la muestra a un vial de 10 ml y se añaden 9 ml de metanol. Se cierra, agita y rotula el vial como '*Solución de trabajo de la muestra de efavirenz*'.

La concentración de efavirenz que se espera obtener de esta solución de trabajo de muestra es de 1 mg por ml y deberá corresponder a la concentración de efavirenz 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 µl 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. 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 la cantidad de excipientes residuales contenidos en los comprimidos o cápsulas o las diferentes concentraciones y 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.

Cuando efavirenz es combinado con tenofovir, deben secarse con cuidado los puntos moviendo la placa por el aire. En este punto el uso de la plancha caliente llevará a la degradación instantánea del complejo termolábil de fumarato de disoproxilo de tenofovir y debe evitarse a toda costa.

IX. REVELADO DE LA PLACA CROMATOGRÁFICA

Se pipetea 14 ml de tolueno, 4 ml de metanol y 2 ml de acetato de etilo 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 todo el solvente residual y se observa la placa cromatográfica a la luz ultravioleta de 254 nm con la lámpara de pilas suministrada. Utilice esta detección obtenida tanto para la identificación del efavirenz como para su valoración cuantitativa.

XI. PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de efavirenz

Recorrido No. 2:

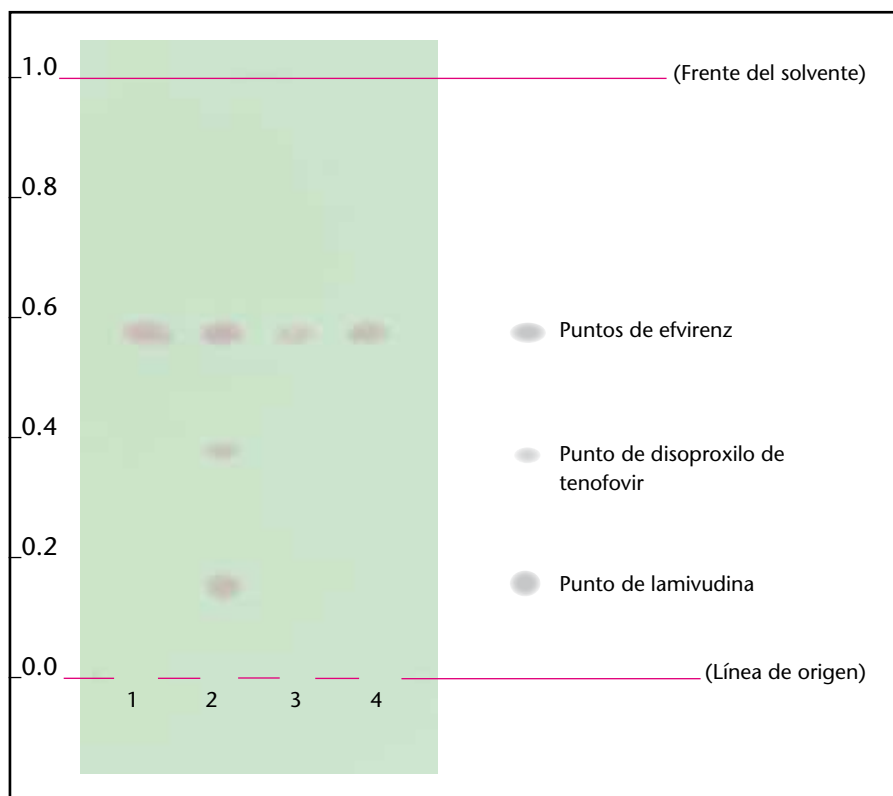
Una dosis fija de fármaco combinación triple de buena calidad con contenido aceptable de efavirenz

Recorrido No. 3:

Formulación sola de fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable de efavirenz

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de efavirenz



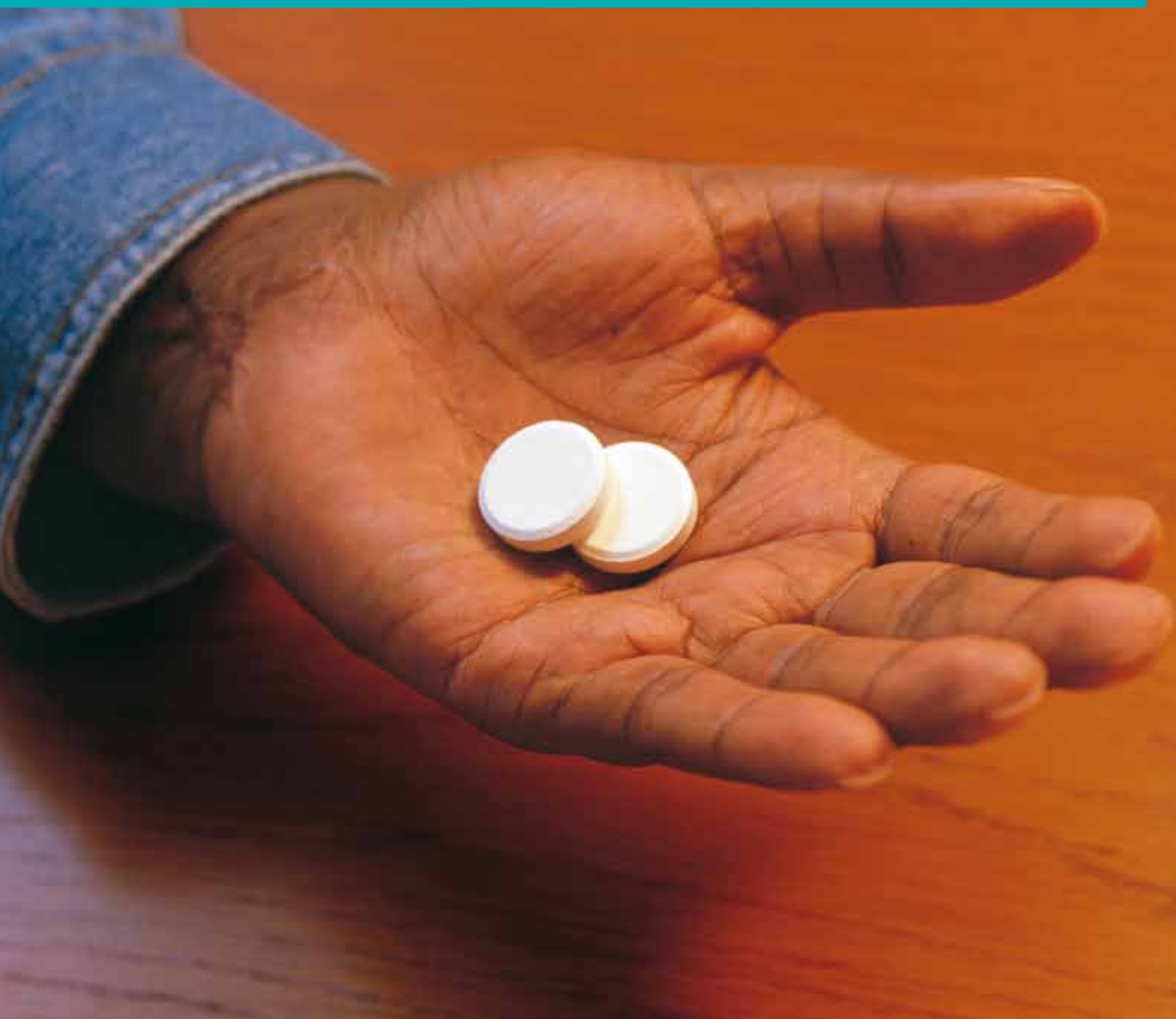
XII. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Un punto de color azul-violeta a una distancia de recorrido de aprox. 0.58 indica la presencia de efavirenz en la solución de ensayo. Combinado con otras medicinas antirretrovirales, un punto con un factor de retención relativo de aproximadamente 0.38 indicaría la presencia de disoproxilo de tenofovir, un punto de aprox. 0.25 la presencia de emtricitabina y un punto de aprox. 0.15 la presencia de lamivudina, respectivamente. Puntos adicionales de color intenso generados por la solución de ensayo podrían indicar la presencia de otros agentes activos o una degradación de la efavirenz, siendo éste último caso el más probable, si van asociados a un punto principal de menor tamaño. Aparte de degradación, un punto principal de menor tamaño generado por la solución de ensayo también puede indicar un bajo contenido de efavirenz y de no aparecer punto alguno, la ausencia total de efavirenz. Los agentes auxiliares incorporados a las diferentes formulaciones de comprimidos y cápsulas pueden causar la aparición de puntos tenues a lo largo del recorrido del frente del solvente y cerca o sobre la línea de origen.

XIII. RESULTADOS & MEDIDAS A TOMAR

El punto principal de efavirenz 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

Global Pharma Health Fund
Frankfurt, Alemania
Tel. +49-69-46939-662
Fax +49-69-46939-852
info@gphf.org · www.gphf.org



El programa de Promoción de la Calidad de Medicamentos „Promoting the Quality of Medicines „ (PQM), financiado por la Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos de Norteamérica „U.S. Agency for International Development“ (USAID), es implementado por la Convención Farmacopea Estadounidense „U.S. Pharmacopeial Convention“ (USP).

Promoting the Quality of Medicines (PQM)

USP Global Public Health Programs
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852, USA
Phone +1-301-816-6370
jin@usp.org · www.usp.org/global