

Manual

Para usuarios del GPHF-Minilab™

Suplemento 2018

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), está 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. Jähnke y Kornelia Dwornik

* * *

Revisado por

Sanford Bradby, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, Mustapha Hajjou, Victor 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 el Convenio de Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica "United States Pharmacopeial Convention" (USP)

* * *

Copyright © de GPHF

* * *

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 800 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 este 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

El GPHF-Minilab™ es ensamblado y suministrado por Technologie Transfer Marburg, Cölbe, Alemania

Capítulo	Página
Nuevos Procedimientos Individuales de Ensayo con Cromatografía.....	4
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 6</i>	
<i>Volumen elevado de antialérgicos y antiinflamatorios no esteroideos sin receta médica</i>	
6.97 Ácido mefenámico.....	4
Como base libre en comprimidos y cápsulas	
6.98 Cetirizina	8
Como sal de diclorhidrato en comprimidos y cápsulas	
6.99 Clorfenamina (Clorfeniramina).....	12
Como sal de maleato en comprimidos y cápsulas incl. formulaciones con paracetamol, fenylefrina et al.	
6.100 Diclofenaco	16
Como sal de sódica o potásica en comprimidos y cápsulas incl. formulaciones con paracetamol	
6.101 Naproxeno	20
Como base libre o sal sódica en comprimidos y cápsulas	
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

6.100 Diclofenaco sódico y potásico incl. asociaciones en dosis fija usual

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. Anotar cualquier particularidad del producto usando el formulario de incidencias como guía. Cada comprimido o cápsula contiene por lo regular 25 o 50 mg de diclofenaco sódico. Generalmente, los comprimidos vienen con una cubierta entérica resistente al ácido gástrico. Las dosificaciones más altas de un 75 y 100 mg de diclofenaco sódico se presentan normalmente como formulación de liberación lenta. A veces, el diclofenaco sódico es sustituido por el diclofenaco potásico. Las tabletas de diclofenaco se pueden

combinar con paracetamol. Las formulaciones inyectables generalmente contienen 25 mg de diclofenaco sódico por ml de agua y pueden combinarse con lidocaína.

II. ENSAYO DE DISGREGACIÓN

Todos los comprimidos y cápsulas de liberación rápida de diclofenaco deben pasar el ensayo de disgregación, tal 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. Sin embargo, las formulaciones de diclofenaco de cubierta entérica y de liberación lenta

no deberían aprobar este test. De hacerlo, indicaría un recubrimiento defectuoso, una matriz defectuosa de liberación sostenida o una reclamación incorrecta de la etiqueta.

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, o almacenados en condiciones inadecuadas, 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 otras medicinas, el diclofenaco sódico y el diclofenaco potásico se extraen de tabletas, cápsulas, frascos o ampollas con metanol y se determinan por CCF con referencia a un estándar secundario apropiado. La diferencia en el contenido de diclofenaco entre el sodio y la sal de potasio es de aproximadamente el cinco por ciento y requiere ajustes apropiados durante la dilución. Para la verificación de la identidad y el contenido de paracetamol en las formulaciones de tabletas y cápsulas de dosis fija, prepare soluciones de muestra y de control apropiadas en metanol según el protocolo de paracetamol en la página 140 del manual principal. Luego, continúe trabajando en este procedimiento.

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 CCF (frasco de 500 ml)
- 13) Plancha de calefacción
- 14) Papel de filtro
- 15) Tijeras
- 16) Pinza
- 17) Luz ultravioleta de 254 nm
- 18) Cámara de tinción con yodo
- 19) Metanol
- 20) Acetato de etilo
- 21) Amoníaco 25%
- 22) Estándar de referencia, por ejemplo comprimidos de 25 mg de diclofenaco sódico

<p>III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR</p>	<p>La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como referencia, por ejemplo, comprimidos con contenido de 25 mg de diclofenaco sódico. Se envuelve el 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 25 ml y se enjuagan todos los residuos sólidos con 10 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 2.5 mg de diclofenaco sódico por ml y se rotula 'Solución madre del estándar de diclofenaco'. La solución se prepara fresca para cada ensayo. Se continúa el trabajo con el líquido claro o turbio sobrenadante.</p>
<p>IV. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE TRABAJO AL 100% (LÍMITE DE CONCENTRACIÓN SUPERIOR)</p>	<p>Se pipetea 2 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 2 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener los equivalentes a 1.25 mg de diclofenaco sódico por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de diclofenaco al 100%'. Ésta solución estándar de trabajo representa un fármaco de buena calidad con un contenido de 100% de diclofenaco sódico.</p>
<p>V. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE TRABAJO AL 80% (LÍMITE DE CONCENTRACIÓN INFERIOR)</p>	<p>Se pipetea 2 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 3 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener los equivalentes a 1 mg de diclofenaco sódico por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de diclofenaco al 80%'. Ésta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad, con contenido de diclofenaco sódico 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.</p>
<p>VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 25 MG DE DICLOFENACO SÓDICO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA</p>	<p>Se toma un comprimido o cápsula completas del producto farmacológico 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. El polvo obtenido de la cápsula de muestra debe vaciarse directamente en el frasco, añadiendo después las dos partes que conforman la cápsula. Para la extracción se añaden 10 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 adicionales, hasta que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.</p>
<p>25 MG DE DICLOFENACO POTÁSICO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA</p>	<p>Se toma un comprimido o cápsula entera de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 9.5 ml de metanol utilizando una pipeta graduada y un frasco de laboratorio de 25 ml. Se continúa trabajando de forma descrita anteriormente.</p>
<p>25 MG DE DICLOFENACO SÓDICO POR ML DE FLUIDO DE INYECCIÓN</p>	<p>Se toma una ampolla o vial de 3 ml del producto farmacológico de las muestras recogidas durante el trabajo de campo. Se abre, se retira una cantidad de 1 ml y se diluye con 9 ml de metanol utilizando pipetas graduadas apropiadas y un frasco de laboratorio de 10 ml para la recolección. Si el pipeteo directo de una ampolla es un desafío, entonces transfiera primero el contenido de una ampolla en un frasco de laboratorio de 10 ml. En caso de que no se pueda recuperar suficiente líquido de inyección de la primera ampolla, se considera utilizar una segunda ampolla y combinar sus fluidos.</p>
<p>50 MG DE DICLOFENACO SÓDICO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA</p>	<p>Se toma un comprimido o cápsula entera de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 20 ml de metanol utilizando una pipeta graduada y un frasco de laboratorio de 25 ml. Se continúa trabajando de forma descrita anteriormente.</p>
<p>50 MG DE DICLOFENACO POTÁSICO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA</p>	<p>Se toma un comprimido o cápsula entera de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 19 ml de metanol utilizando una pipeta graduada y un frasco de laboratorio de 25 ml. Se continúa trabajando de forma descrita anteriormente.</p>

100 MG DE DICLOFENACO SÓDICO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA

Se toma un comprimido o cápsula entera de la muestra y se extrae el polvo obtenido con 40 ml de metanol utilizando una pipeta graduada y un frasco de laboratorio de 50 ml. Se continúa trabajando de forma descrita anteriormente.

Puro o en combinación con otras medicinas, todas las soluciones madre producidas deberán contener finalmente una concentración equivalente a 2.5 mg de diclofenaco sódico por ml y se rotula 'Solución madre de la muestra de diclofenaco'. Las disoluciones 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 pipetea 1 ml de la solución madre de la muestra a un vial de 10 ml y se añaden 1 ml de metanol. Se tapa el vial, agita y se rotula: 'Solución de trabajo de la muestra de diclofenaco'.

Los equivalentes de diclofenaco sódico esperados en esta solución de trabajo de la muestra es de 1.25 mg por ml y debe corresponder a los equivalentes de diclofenaco sódico de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

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.

En una placa se pueden aplicar hasta 5 muestras. Compruébese la uniformidad de las manchas utilizando luz ultravioleta de 254 nm. Todas las manchas 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 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 las manchas sea homogéneo.

Seque las manchas con cuidado. Para ello, sostenga la placa cromatográfica con las pinzas suministradas justo por encima de la plancha de calefacción durante unos 30 segundos.

IX. REVELADO DE LA PLACA CROMATOGRÁFICA

Se pipetea 15 ml de acetato de etilo, 4.5 de metanol y 0.5 de amoníaco 25% 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 disolvente haya cubierto aprox. las tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo requerido para el revelado de unos 15 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 de calefacción de ser necesario.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca por completo el solvente residual y se observa la cromatoplaça bajo luz ultravioleta de 254 nm antes y después de la tinción con yodo con la lámpara de pilas suministrada. El procedimiento de tinción con vapores de yodo lleva aproximadamente un minuto. Estos métodos de detección se utilizan tanto para la identificación de diclofenaco 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 diclofenaco

Recorrido No. 2:

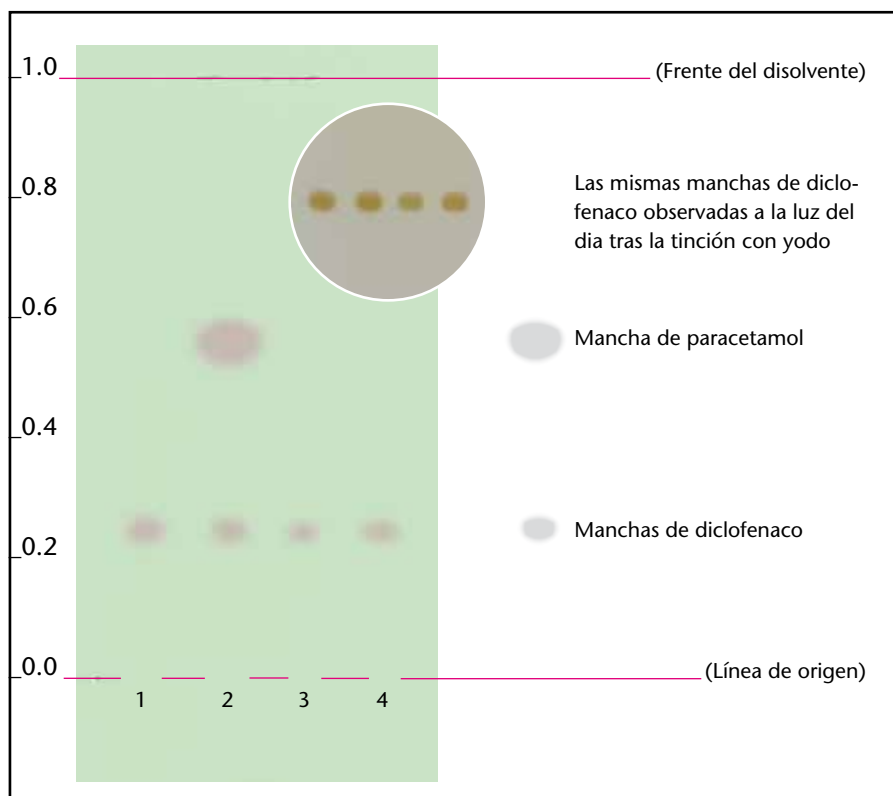
Fármaco de politerapia con dosis fija de buena calidad y contenido aceptable de diclofenaco

Recorrido No. 3:

Fármaco de monoterapia con dosis única de calidad deficiente y contenido inaceptable de diclofenaco

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de diclofenaco



XII. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha de color azul-violeta a una distancia de recorrido de aprox. 0.25 indica la presencia de diclofenaco en la solución de ensayo. En asociaciones en dosis fija, una mancha con un factor de retención relativo de aproximadamente 0.54 indicaría la presencia de paracetamol. En diferentes formulaciones de fluidos de inyección, una mancha tenue a una distancia de recorrido de aprox. 0.71 indicaría la presencia de lidocaína. Manchas adicionales de color intenso generados por la solución de ensayo podrían indicar la presencia de otros agentes activos o una degradación de diclofenaco, paracetamol o lidocaína. Aparte de degradación, una mancha principal de menor tamaño generado por la solución de ensayo también puede indicar un bajo contenido de diclofenaco y de no aparecer mancha alguna, la ausencia total de diclofenaco. Los agentes auxiliares incorporados a las diferentes formulaciones pueden causar la aparición de manchas más tenues, ya sea a lo largo del recorrido del frente del disolvente o quedándose en la línea de origen. Esto es particularmente válido para el alcohol bencílico y la acetilcisteína encontrados con frecuencia en formulaciones inyectables del diclofenaco. Sin embargo, debido a la fuerte dilución durante la preparación de la muestra, ambos compuestos generalmente caen por debajo de su límite de detección.

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

Al exponer la cromatoplaa al vapor de yodo, todas las manchas ya observadas a 254 nm se están convirtiendo en marrón anaranjado. Todavía observe la placa cuando el yodo se evapora. Las manchas que reflejan productos de mala calidad desaparecerán primero gradualmente seguidos por las manchas de referencia que representan un contenido de diclofenaco de un 80 y un 100 por ciento, respectivamente.

XIV. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM TRAS LA TINCIÓN CON YODO

Todas las manchas de diclofenaco ya observadas a 245 nm antes la tinción con yodo se harán mucho más intensas ahora. Esto facilitará la lectura e interpretación del cromatograma.

XV. RESULTADOS & MEDIDAS A TOMAR

La mancha principal de diclofenaco en el cromatograma obtenida 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), está 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