

Manual

Para usuarios de GPHF-Minilab™

Revisión y Ampliación
2022
ahora cubre
107 agentes activos

Ensayos Físicos y Cromatografía en Capa Fina



Richard W. O. Jähnke y Kornelia Dwornik



Una iniciativa sin ánimo de
lucro apoyada por Merck KGaA,
Darmstadt, Alemania

Observaciones introductorias

Además de los ensayos físicos, esta “Guía Concisa de Control de Calidad de Fármacos Esenciales y otros Medicamentos” contiene una colección de ciento siete protocolos de ensayos cromatográficos en capa fina para ciento siete ingredientes farmacéuticos activos esenciales con multitud de formulaciones sólidas y líquidas, formas salinas, potencias de dosificación y combinaciones de fármacos en dosis fijas. Este inventario de métodos facilita el trabajo de aplicar la ciencia a la práctica laboral. Constituye la base de cada GPHF-Minilab™, un mini laboratorio portátil creado para las autoridades sanitarias y otros proveedores de servicios de salud para que estén en condiciones de verificar rápidamente la calidad de los medicamentos en países de ingresos bajos y medios. El Global Pharma Health Fund (GPHF), una organización benéfica que vive de las donaciones realizadas por Merck KGaA Darmstadt (Alemania), inició y apoyó el desarrollo de ambos, el Minilab y el inventario de métodos asociados. Otras contribuciones proceden del Fomento de Calidad de Medicamentos (PQM) que es un programa implementado por la Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP). Los ensayos del Minilab proporcionan resultados rápidos, rentables y fiables para la detección de medicamentos falsificados cuyo contenido es diferente, muy superior o inferior al indicado en la etiqueta. Los resultados de los ensayos son semicuantitativos y aptos para uso interno. Para el trabajo forense, las muestras deberán analizarse con todo el rigor necesario.

La calidad de los medicamentos administrados a los pacientes representa actualmente una de las principales preocupaciones de muchos países y las organizaciones internacionales de atención sanitaria. Teniendo en cuenta el hecho de que se están distribuyendo medicamentos falsificados y de mala calidad en todo el mundo, especialmente en países en vías de desarrollo, el Minilab y su inventario de métodos tienen por objeto hacer que los ensayos sencillos de calidad de los fármacos estén más disponibles para los programas de vigilancia y, a nivel del consumidor, por ejemplo en los hospitales, durante la recepción de mercancías. La mejora de la capacidad de ensayo de los medicamentos con el GPHF-Minilabs™ permitirá a las autoridades nacionales y a otras partes interesadas poder realizar con mayor frecuencia una supervisión posterior a la comercialización, a fin de detectar medicamentos falsificados, identificar otros problemas de calidad de los medicamentos y usar los datos obtenidos para proteger al paciente. Ya se han suministrado cientos de Minilabs a más de noventa países de África, Asia y el Pacífico y América Latina. Los datos generados con el GPHF-Minilab™ indicaron de manera eficaz que había medicamentos antipalúdicos y antibacterianos falsificados sin ningún ingrediente farmacéutico activo y provocó varias alertas mundiales sobre productos médicos por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los Minilabs salvan vidas.

Sobre el terreno, el Fondo colabora con centros de capacitación públicos, privados y religiosos para lograr un mejor avance farmacéutico. Estas colaboraciones están ayudando a crear capacidad local y regional en materia de garantía de calidad farmacéutica. También ayuda a fortalecer los sistemas farmacéuticos y a acceder a medicamentos de calidad garantizada. También se ofrecen cursos de capacitación para familiarizar a los usuarios del Minilab con los procedimientos a seguir en los ensayos de medicamentos falsificados descritos en este manual. El Global Pharma Health Fund vienen publicando este manual desde 1998 y lo actualiza anualmente. Ha sido publicado con el programa de Promoción de la Calidad de los Medicamentos de la USP desde 2010. En GPHF aprovechamos esta oportunidad para agradecer a todos aquellos que han contribuido y nos han guiado en todos estos años. La revisión y ampliación de la edición actual refleja y consolida la experiencia adquirida en los últimos veinte años. Para mayor información sobre ediciones anteriores y suplementos, o cualquier otra consulta relacionada con el nuevo manual, envíe un correo electrónico a info@gphf.org. Para la adquisición de juegos completos de Minilab, manuales o artículos de recambio, póngase en contacto con el centro logístico licenciado de GPHF Technologie Transfer Marburg a través de la dirección de correo electrónico ttm@ttmgermany.de.

Asistencia en la implementación del Minilab

por

Agencia Alemana de Cooperación Internacional: www.giz.de
Agencia Belga de Desarrollo: www.enabel.be
Agregado de la Policía de la Embajada de Francia: www.kh.ambafrance.org
Crown Agents (Reino Unido): www.crownagents.com
Instituto Nacional de Metrología de Alemania: www.ptb.de
Médicos alemanes: www.german-doctors.de
Instituto Alemán de Misión Médica: www.difaem.de
Instituto de Misión Médica de Würzburg: www.medmissio.de
Management Sciences for Health (Estados Unidos): www.msh.org
Merck KGaA Darmstadt (DE): www.merckgroup.com
Misión para Medicamentos y Suministros Esenciales: www.meds.or.ke
Organización Alemana de Ayuda Médica Acción Medeor: www.medeor.de
Oficina de las Naciones Unidas de Servicios para Proyectos: www.unops.org
Organización Panamericana de la Salud: www.paho.org
Programa «Promoción de Calidad de los Medicamentos» de la USAID,
dirigido por la Farmacopea de los Estados Unidos: www.usp-pqm.org
Red Ecuémica Farmacéutica (KE): www.epnetwork.org
Royal Tropical Institute: www.kit.nl
Swiss Tropical and Public Health Institute: www.swisstph.ch
y muchos otros más

Protocolos Minilab Ordenados por Clases Terapéuticas*

Enfermedades transmisibles

Antibacterianos

Ácido clavulánico
Amoxicilina
Ampicilina
Azitromicina
Benzatina bencilpenicilina
Bencilpenicilina
Cefalexina
Cefazolina
Cefixima
Cefotaxima
Cefpodoxima
Ceftriaxona
Cefuroxima
Ciprofloxacino
Claritromicina
Clindamicina
Cloranfenicol
Clorhexidina
Cloxacilina
Doxiciclina
Eritromicina
Fenoximetilpenicilina
Gentamicina
Levofloxacino
Metronidazol
Moxifloxacino
Ofloxacino
Procaína bencilpenicilina
Sulfametoxazol/Trimetoprima
Tetraciclina

Antimicobacterianos

Ácido p-aminosalicílico
Amikacina
Capreomicina
Cicloserina
Dapsona
Estreptomina
Etambutol
Etionamida
Isoniazida
Kanamicina
Levofloxacino
Moxifloxacino
Ofloxacino
Pirazinamida
Protionamida
Rifampicina

Antimaláricos

Amodiaquina
Artemetero
Artesunato
Atovaquona
Cloroquina
Dihidroartemisinina
Doxiciclina
Halofantrina
Lumefantrina
Mefloquina
Piperaquina
Pirimetamina
Pironaridina
Primaquina
Proguanil
Quinina
Sulfadoxina
Sulfametoxipirazina

Anti(rretro)víricos

Aciclovir
Didanosina
Efavirenz
Estavudina
Indinavir
Lamivudina
Nevirapina
Oseltamivir
Ritonavir
Zidovudina

Antihelmínticos

Albendazol
Mebendazol
Prazicuantel

Antifúngicos

Fluconazol
Griseofulvina

Enfermedades no transmisibles

Analgésicos

Ácido acetilsalicílico
Ácido mefenámico
Diclofenaco
Naproxeno
Paracetamol

Agentes antialérgicos

Cetirizina
Clorfenamina
Dexametasona
Prednisolona

Agentes antiasmáticos

Aminofilina
Salbutamol

Agentes cardiovasculares

Amlodipino
Atenolol
Bisoprolol
Captopril
Furosemida
Hidroclorotiazida
Irbesartán
Lisinopril
Losartán
Metildopa
Nifedipina
Simvastatina
Telmisartán
Valsartán

Agentes endocrinos

Clomifeno
Glibenclamida
Metformina

Agentes gastrointestinales

Metoclopramida
Omeprazol
Ranitidina

*Se incluyen las combinaciones típicas en dosis fijas. Para más detalles, véase el orden alfabético en el índice.

1	Introducción	14
2	Salud y seguridad	18
3	Control visual	19
4	Verificación del peso	22
5	Ensayo de disgregación	23
6	Ensayos con cromatografía en capa fina (CCF)	24
6.1	Concepto general de la CCF	24
6.2	Fase móvil	25
6.3	Fase estacionaria	26
6.4	Muestreo	26
6.5	Preparación de la muestra	27
6.6	Aplicación de la muestra	31
6.7	Desarrollo del cromatograma	33
6.8	Detección de los agentes activos	34
6.9	Lectura de la placa cromatográfica	37
6.10	Cálculo de relación de frentes (valor de Rf)	38
6.11	Limpieza y disposición de residuos	39
6.12	Reensamblaje del Minilab	39
7	Protocolos de ensayo individual CCF*	41
7.1	Aciclovir	42
7.2	Ácido acetilsalicílico <i>incl. combinaciones con paracetamol, cafeína y clopidogrel</i>	46
7.3	Ácido clavulánico <i>como sal potásica combinado con amoxicilina</i>	50
7.4	Ácido mefenámico	54
7.5	Ácido paraaminosalicílico <i>como base libre y sal sódica en gránulos de liberación modificada</i>	58
7.6	Albendazol	62
7.7	Amikacina sulfato <i>en soluciones y polvos inyectables</i>	66
7.8	Aminofilina <i>(complejo de teofilina etilendiamina)</i>	70
7.9	Amlodipino besilato/mesilato <i>incl. combinaciones con inhibidores de la ECA, sartanes, hidroclorotiazida y atenolol</i>	74
7.10	Amodiaquina clorhidrato <i>incl. combinaciones con artesunato</i>	78
7.11	Amoxicilina trihidratada <i>en comprimidos, cápsulas y polvos solubles incl. combinaciones con ácido clavulánico</i>	82
7.12	Ampicilina trihidratada <i>en comprimidos y capsulas</i>	86
7.13A	Artemetero <i>con lumefantrina en comprimidos clásicos o dispersables y polvos solubles</i>	90
7.13B	Artemetero <i>como agente único en líquidos aceitosos inyectables</i>	94
7.14	Artesunato <i>para uso oral y parenteral incl. combinaciones con amodiaquina, mefloquina, sulfadoxina et al.</i>	98
7.15	Atenolol <i>incl. combinaciones con amlodipino, nifedipina y hidroclorotiazida</i>	102
7.16	Atovacuona <i>en combinación con proguanil</i>	106
7.17	Azitromicina	110
7.18	Bencilpenicilina sódica y potásica <i>en polvos inyectables</i>	114
7.19	Benzatina bencilpenicilina <i>en polvos inyectables</i>	118
7.20	Bisoprolol fumarato <i>incl. combinaciones con hidroclorotiazida</i>	122
7.21	Capreomicina sulfato <i>en polvos inyectables</i>	126

*Por defecto, los comprimidos y cápsulas solubles instantáneamente y no modificadas que contienen un solo ingrediente farmacéutico como base libre constituyen la base de referencia para cada protocolo de ensayo. Cualquier otra inclusión de formas de sal, formulaciones farmacéuticas y combinaciones de fármacos en dosis fijas se denomina por separado. Además, cada protocolo incluye una serie de niveles de dosificación.

7.22	Captopril <i>incl. combinaciones con hidroclorotiazida</i>	130
7.23	Cefalexina <i>monohidratada</i>	134
7.24	Cefazolina <i>sódica en polvos inyectables</i>	138
7.25	Cefixima <i>trihidratada</i>	142
7.26	Cefotaxima <i>sódica en polvos inyectables incl. combinaciones con sulbactam</i>	146
7.27	Cefpodoxima proxetil	150
7.28	Ceftriaxona <i>sódica en polvos inyectables</i>	154
7.29	Cefuroxima axetilo	158
7.30	Cetirizina <i>diclorhidrato</i>	162
7.31	Cicloserina	166
7.32	Ciprofloxacino <i>como base libre y sal clorhidrato</i>	170
7.33	Claritromicina	174
7.34	Clindamicina <i>clorhidrato</i>	178
7.35	Clomifeno <i>citrato</i>	182
7.36	Cloranfenicol	186
7.37	Clorfenamina <i>maleato</i>	190
7.38	Clorhexidina <i>digluconato en soluciones y geles de uso externo incl. combinaciones con cetrimida</i>	194
7.39	Cloroquina <i>fosfato y sulfato</i>	198
7.40	Cloxacilina <i>sódica monohidratada</i>	202
7.41	Dapsone	206
7.42	Dexametasona <i>en comprimidos</i>	210
7.43	Dexametasona-21-fosfato <i>como sal disódica para soluciones inyectables</i>	214
7.44	Diclofenaco <i>sódico/potásico incl. combinaciones con paracetamol et al.</i>	218
7.45	Didanosina	222
7.46	Dihidroartemisinina <i>incl. combinaciones con piperaquina</i>	226
7.47	Doxiciclina <i>monohidratada y hclato</i>	230
7.48	Efavirenz <i>incl. combinaciones con lamivudina, tenofovir y emtricitabina</i>	234
7.49	Eritromicina estearato	238
7.50	Estavudina <i>incl. combinaciones con lamivudina y nevirapina</i>	242
7.51	Estreptomicina <i>sulfato en polvos inyectables</i>	246
7.52	Etambutol <i>clorhidrato incl. combinaciones con rifampicina, isoniazida y pirazinamida</i>	250
7.53	Etionamida	254
7.54	Fenoximetilpenicilina <i>potásica</i>	258
7.55	Fluconazol	262
7.56	Furosemida	266
7.57	Gentamicina <i>sulfato en soluciones inyectables</i>	270
7.58	Glibenclamida <i>incl. combinaciones con metformina</i>	274
7.59	Griseofulvina	278
7.60	Halofantrina <i>clorhidrato</i>	282
7.61	Hidroclorotiazida <i>incl. combinaciones con amlodipino, bisoprolol, captopril, enalapril, lisinopril, metildopa y algunos sartanes</i>	286
7.62	Indinavir <i>sulfato</i>	290
7.63	Irbesartán <i>incl. combinaciones con hidroclorotiazida o amlodipino</i>	294
7.64	Isoniazida <i>incl. combinaciones con rifampicina, pirazinamida y etambutol</i>	298
7.65	Kanamicina <i>sulfato en soluciones y polvos inyectables</i>	302
7.66	Lamivudina <i>incl. combinaciones con zidovudina, estavudina, nevirapina, efavirenz y tenofovir</i>	306
7.67	Levofloxacino <i>hemihidrato</i>	310
7.68	Lisinopril <i>dihidrato incl. combinaciones con hidroclorotiazida o amlodipino</i>	314
7.69	Losartán <i>potásico incl. combinaciones con hidroclorotiazida o amlodipino</i>	318
7.70	Lumefantrina <i>con artemetero en comprimidos clásicos o dispersables y polvos solubles</i>	322
7.71	Mebendazol	326
7.72	Mefloquina <i>clorhidrato incl. combinaciones con artesunato</i>	330
7.73	Metformina <i>clorhidrato incl. combinaciones con empaglifozina, glibenclamida, glimepirida, sitagliptina y vildagliptina</i>	334
7.74	Metildopa <i>anhidra/sesquihidratada incl. combinaciones con hidroclorotiazida</i>	338
7.75	Metoclopramida <i>clorhidrato como monohidrato</i>	342
7.76	Metronidazol	346
7.77	Moxifloxacino <i>clorhidrato</i>	350
7.78	Naproxeno <i>como base libre y sal sódica</i>	354
7.79	Nevirapina <i>incl. combinaciones con zidovudina, lamivudina y estavudina</i>	358
7.80	Nifedipina <i>incl. formulaciones de liberación lenta y combinaciones con atenolol</i>	362
7.81	Ofloxacino	366
7.82	Omeprazol	370
7.83	Oseltamivir	374

7.84	Paracetamol <i>incl. combinaciones con ácido acetilsalicílico, cafeína, clorfenamina, codeína, diclofenaco et al.</i>	378
7.85	Piperaquina <i>fosfato en combinaciones con dihidroartemisinina</i>	382
7.86	Pirazinamida <i>incl. combinaciones con rifampicina, isoniazida y etambutol</i>	386
7.87	Pirimetamina <i>incl. combinaciones con sulfamidas y artesunato</i>	390
7.88	Pironaridina <i>tetrafosfato incl. combinaciones con artesunato</i>	394
7.89	Prazicuantel	398
7.90	Prednisolona	402
7.91	Primaquina <i>difosfato</i>	406
7.92	Procaína bencilpenicilina <i>en polvos inyectables incl. formulaciones reforzadas</i>	410
7.93	Proguanil <i>clorhidrato incl. combinaciones con atovacuona</i>	414
7.94	Protionamida	418
7.95	Quinina <i>en todas las sales habituales para uso oral y parenteral</i>	422
7.96	Ranitidina <i>clorhidrato</i>	426
7.97	Rifampicina <i>incl. combinaciones con isoniazida, pirazinamida y etambutol</i>	430
7.98	Ritonavir <i>incl. combinaciones con lopinavir</i>	434
7.99	Salbutamol <i>sulfato en comprimidos, capsulas y soluciones para nebulización</i>	438
7.100	Simvastatina	442
7.101	Sulfadoxina <i>en combinación con pirimetamina y artesunato</i>	446
7.102	Sulfametoxazol <i>en combinación con trimetoprima (cotrimoxazol)</i>	450
7.103	Sulfametoxipirazina <i>en combinación con pirimetamina y artesunato</i>	454
7.104	Telmisartán <i>incl. combinaciones con hidroclorotiazida o amlodipino</i>	458
7.105	Tetraciclina <i>clorhidrato</i>	462
7.106	Valsartán <i>incl. combinaciones con hidroclorotiazida o/y amlodipino</i>	466
7.107	Zidovudina <i>incl. combinaciones con lamivudina y nevirapina</i>	470
8	Lista de artículos de inventario del Minilab	474



7.3 Ácido clavulánico como sal potásica combinado con amoxicilina

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. ENSAYOS FÍSICOS

Busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos preliminares sobre métodos y operaciones generales, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido o cápsula suele contener 125 mg de ácido clavulánico, preferiblemente presentado como clavulanato de potasio combinado con 250, 500 u 875 mg de amoxicilina anhidra. Se sabe que existen dosis menores, por ejemplo, 62.5 mg de ácido clavulánico en forma de

dosis oral. Además, el ácido clavulánico de dosis fija se suele presentar en polvo para suspensiones orales. Al margen de la cantidad total de ingredientes activos en el polvo seco, cada 5 ml de la suspensión preparada suele contener 125 o 250 mg de amoxicilina y 31.25 o 62.5 mg de ácido clavulánico. Verifique el peso total de los comprimidos o el peso de llenado de las cápsulas y los jarabes secos utilizando la balanza electrónica suministrada. Todos los comprimidos y cápsulas de liberación rápida que contengan ácido clavulánico también deben pasar el ensayo de desintegración. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Es un

gran defecto si una formulación de liberación instantánea no pasa este ensayo.

II. RESULTADOS Y 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 malas condiciones, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatografía en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

El clavulanato de potasio se extrae de comprimidos y cápsulas de amoxicilina con una cantidad conocida de agua y se aplica la cromatografía en capa fina (CCF) para verificar la existencia y el contenido de ácido clavulánico, comparándolo con una sustancia de referencia adecuada. Bajo condiciones de ensayo, el clavulanato de potasio se transforma en ácido clavulánico. Para una rápida verificación de la calidad del fármaco de la fracción de amoxicilina, consulte el correspondiente protocolo que se incluye en este manual.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|---|
| 1) Mano de mortero | 13) Plancha de calefacción |
| 2) Papel aluminio | 14) Papel de filtro |
| 3) Embudo | 15) Tijeras |
| 4) Cinta adhesiva | 16) Pinza |
| 5) Rotulador | 17) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 6) Lápiz y regla | 18) Cámara de sumersión
(frasco plástico de 250 ml) |
| 7) Viales de 10 ml | 19) Cámara de manchado con yodo |
| 8) Juego de pipetas graduadas
(1 a 25 ml) | 20) Agua |
| 9) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 21) Metanol |
| 10) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 22) Ninhidrina |
| 11) Microcapilares de vidrio (2-µl de capacidad) | 23) Acetato de etilo |
| 12) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) | 24) Solución de ácido acético al 96% |
| | 25) Sustancia de referencia, por ejemplo tabletas de 125 mg de ácido clavulánico combinadas con 500 mg de amoxicilina |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como sustancia de referencia, por ejemplo, tabletas con contenido de 125 mg de ácido clavulánico combinadas con 500 mg de amoxicilina. Se envuelve la tableta usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Se desocupa cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml y se enjuagan todos los residuos sólidos con 25 ml de agua utilizando una 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. Además

de amoxicilina, la solución obtenida debe contener 5 mg de ácido clavulánico total por ml y se rotula 'Solución madre del estándar de ácido clavulánico'. 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 SUPERIOR)

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añade 3 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener 1.25 mg de ácido clavulánico total por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de ácido clavulánico al 100%'.

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

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

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añade 4 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener 1.0 mg de ácido clavulánico total por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de ácido clavulánico al 80%'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad, con contenido de ácido clavulánico 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 para un producto dado.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 62.5 MG DE ÁCIDO CLAVULÁNICO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA

Se toma una tableta o cápsula completa de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. De acuerdo con el procedimiento usual, la tableta se envuelve en papel aluminio y se tritura hasta obtener un polvo fino. Se transfiere todo el polvo obtenido a un frasco de laboratorio de 25 ml. El polvo contenido en las cápsulas debe vaciarse directamente en el frasco de extracción primero, añadiendo su tapa vacía y el caparazón del cuerpo vacío al final. Para la extracción, se añaden 12.5 ml de agua 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.

125 MG DE ÁCIDO CLAVULÁNICO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA

Se toma un comprimido o una cápsula de muestra entera y extraiga el polvo obtenido con 25 ml de agua. Continúe trabajando como se indica arriba.

375 MG DE ÁCIDO CLAVULÁNICO POR BOTELLA

Se toma todo el polvo de un frasco de jarabe seco y extráigalo con 75 ml de agua. Continúe trabajando como se indica arriba.

625 MG DE ÁCIDO CLAVULÁNICO POR BOTELLA

Se toma todo el polvo de un frasco de jarabe seco y extráigalo con 125 ml de agua. Continúe trabajando como se indica arriba.

750 MG DE ÁCIDO CLAVULÁNICO POR BOTELLA

Se toma todo el polvo de un frasco de jarabe seco y extráigalo con 150 ml de agua. Continúe trabajando como se indica arriba.

1250 MG DE ÁCIDO CLAVULÁNICO POR BOTELLA

Se toma todo el polvo de un frasco de jarabe seco y extráigalo con 250 ml de agua. Continúe trabajando como se indica arriba.

Además de amoxicilina, todas las soluciones madre producidas deberán contener finalmente 5 mg de ácido clavulánico por ml y rotularse 'Solución madre de la muestra de ácido clavulánico'. 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 pipetea 1 ml de la solución madre de la muestra a un vial de 10 ml y se añade 3 ml de metanol. Se cierra, agita y rotula el vial como 'Solución de trabajo de la muestra de ácido clavulánico'.

La concentración de ácido clavulánico que se espera obtener de esta solución de trabajo de la muestra es de 1.25 mg por ml y deberá corresponder a la concentración de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Marque una línea de origen paralela y a unos 1.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica y aplique 2 µl de cada solución de ensayo y del estándar como se muestra en la imagen de al lado, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

En una placa se pueden aplicar hasta cinco muestras. Comprobar la uniformidad de las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Aunque el ácido clavulánico por sí mismo permanece invisible, la fracción de la amoxicilina y los excipientes del medicamento se harán visibles para facilitar la verificación. Todas las manchas deberán tener forma circular y estar situadas de manera equidistante entre sí en la línea de origen. Aunque su intensidad puede diferir, su diámetro no. Las diferentes intensidades se deben a las cantidades residuales de los excipientes o a las diferentes concentraciones y combinaciones de fármacos en las soluciones de la 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.

Hay que tener en cuenta que, debido a su mayor viscosidad, el llenado y vaciado de las pipetas microcapilares puede llevar algún tiempo al manejar soluciones de muestras acuosas que llegan de jarabes secos. Sin embargo, el llenado y vaciado de las micropipetas de un extremo a otro es esencial para realizar un buen trabajo cuantitativo. Por lo tanto, tómese su tiempo y sea preciso. Como los trazos de agua causan manchas borrosas y largas, se debe secar completamente todo el disolvente de extracción antes de desarrollar la cromatoplaque. Para eliminar toda el agua residual de forma rápida y completa, se suele secar la cromatoplaque a la máxima temperatura. Sin embargo, en este caso, la solución de ensayo contiene ácido clavulánico que es muy sensible al calor. Por lo tanto, el secado de manchas tiene que cambiar de caliente y rápidamente a tibio por bastante tiempo. Para ello, sostenga y agite la cromatoplaque en la corriente de aire caliente justo encima de la plancha de calefacción durante unos dos minutos. A intervalos, haga que la cromatoplaque toque directamente la plancha de calefacción por un segundo. Recuerde que la cromatoplaque tiene que permanecer tibia en todo momento. Cuando se calienta, el ácido clavulánico se degrada fácilmente.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Se pipetea 15 ml de acetato de etilo, 5 ml de solución de ácido acético al 96% y 5 ml de agua al frasco a utilizarse como cuba cromatográfica. Se tapa la cuba y se mezcla muy bien. Se recubre la pared de la cuba con papel filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar la saturación de la cuba con el vapor del solvente. Cuidadosamente se coloca la placa CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente haya alcanzado aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. El tiempo de proceso será de unos 30 minutos. Retire la placa de la cuba, marque el frente del disolvente y seque por completo todos los disolventes de la fase móvil antes de la detección, teniendo en cuenta que el ácido clavulánico se degrada fácilmente cuando la placa cromatográfica se calienta demasiado. Por lo tanto, sostenga y agite la placa cromatográfica en la corriente de aire caliente justo por encima de la plancha de calefacción durante unos tres minutos. De manera intermitente, haga que la placa cromatográfica toque directamente la plancha de calefacción por un segundo. Sin embargo, la placa cromatográfica solo deberá estar tibia. Si se calienta, las manchas de ácido clavulánico irán desapareciendo gradualmente.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca por completo el solvente residual y se observa la placa cromatográfica bajo luz ultravioleta de 254 nm usando la lámpara de pilas suministrada. Una vez verificada la presencia o ausencia de cualquier componente ajeno, puede exponerse la placa CCF a los vapores de yodo. Este método se utiliza tanto para la identificación del ácido clavulánico como para su valoración cuantitativa. Además pueden verificarse la calidad y el contenido del medicamento mediante la observación de la placa a la luz del día tras el manchado con ninhidrina. La ninhidrina detecta también el aspartamo en situaciones en las que este edulcorante no sacárido se ha utilizado en jarabes secos.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

El ácido clavulánico deberá permanecer invisible y manchas con una distancia de recorrido de aprox. 0.28 indican la presencia de amoxicilina en la solución de ensayo. Las manchas

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 ácido clavulánico

Recorrido No. 2:

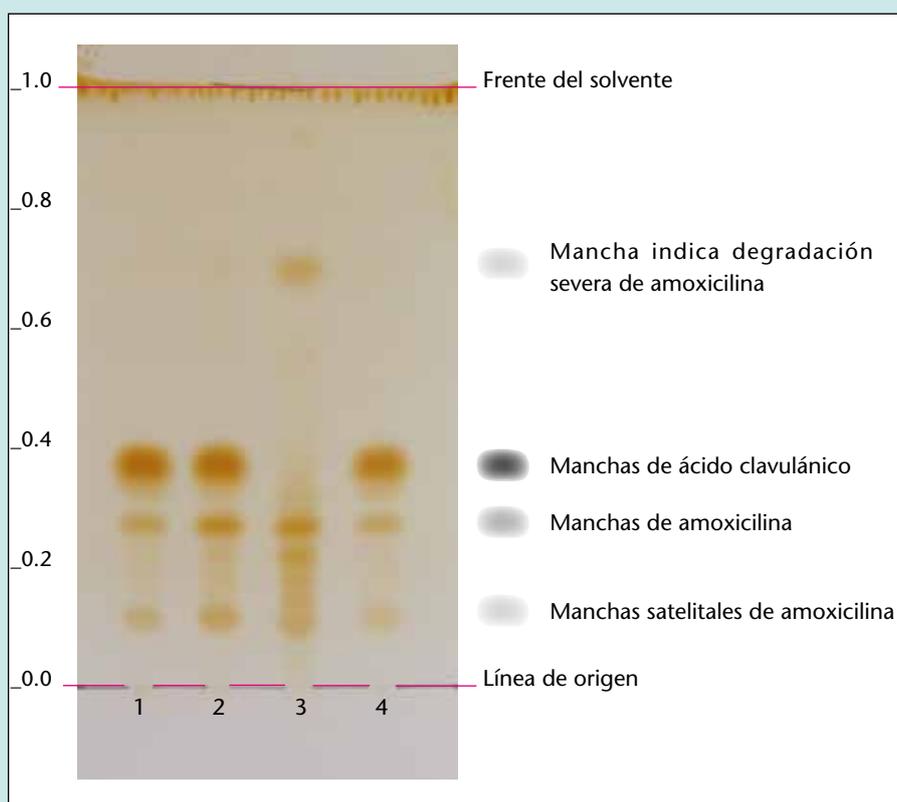
Combinación en dosis fija de buena calidad con contenido aceptable de ácido clavulánico

Recorrido No. 3:

Combinación en dosis fija que indican un contenido cero de ácido clavulánico y una fuerte degradación de la amoxicilina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de ácido clavulánico



intensas adicionales generadas por la solución de ensayo indican la presencia de otros agentes activos. Para una mayor verificación de la identidad y el contenido de la amoxicilina siga el correspondiente protocolo que se incluye en este manual.

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

Una mancha de color amarillo-marrón intenso a una distancia de recorrido de aprox. 0.38 indica la presencia de ácido clavulánico en la solución de ensayo. Las manchas de amoxicilina observadas bajo la luz UV de 254 nm tomarán también un color amarilloso-marrón. Manchas adicionales de color intenso generadas por la solución de ensayo podrían indicar la presencia de otros agentes activos, una degradación del ácido clavulánico o amoxicilina, siendo este último caso el más probable si van asociados cada vez a una mancha principal de menor tamaño. Una mancha principal más pequeña de la solución de ensayo también puede indicar un bajo contenido en ácido clavulánico y si no hay ninguna mancha en absoluto, significa una ausencia completa de ácido clavulánico. Se continúa observando la placa conforme y se va evaporando el yodo. Las manchas que representan los productos de baja calidad irán desapareciendo gradualmente primero, seguidas por las manchas de referencia que representan un contenido de agente activo del 80% y 100%, respectivamente. Los agentes auxiliares incorporados en diferentes productos acabados pueden causar algunas manchas más débiles que se desplazan a lo largo del frente del disolvente o que emergen cerca o en la línea de origen.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de ácido clavulánico en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido a la obtenida con el cromatograma de las soluciones estándar alta y baja. Este 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 en el tercer ensayo. Para la determinación 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, fotografíe todos los resultados con una cámara digital con la luz de flash desactivada.

7.13A Artemetero con lumefantrina en comprimidos clásicos o dispersables y polvos solubles

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos anteriores sobre métodos y operaciones generales, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido clásico y dispersable suele contener 20 u 80 mg de artemetero combinado con 120 o 480 mg de lumefantrina, respectivamente. Los productos combinados también se suelen presentar como polvo seco para suspensiones orales que contienen generalmente 180 o

360 mg de artemetero y 1080 o 2160 mg de lumefantrina por frasco, respectivamente. Independientemente de la cantidad total de ingredientes activos en el polvo seco, cada 5 ml de la suspensión preparada deberá contener al final 15 mg de artemetero y 90 mg de lumefantrina. Verifique el peso total de los comprimidos o el peso de llenado de las cápsulas y los jarabes secos utilizando la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Todas las formulaciones de comprimidos y cápsulas de artemetero/lumefantrina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración. Deben desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Es

un defecto importante si una formulación de liberación instantánea no pasar este ensayo.

II. RESULTADOS Y 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 malas condiciones, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatografía en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

Solo o en combinación con lumefantrina, el artemetero se extrae de tabletas clásicas o dispersables y de jarabes secos con una cantidad conocida de ácido acético metanólico y se aplica la cromatografía en capa fina (CCF) para verificar la existencia y el contenido de artemetero comparándolo con una sustancia de referencia adecuada. Para la rápida verificación de la calidad del contenido de lumefantrina se consulta el protocolo adecuado descrito en el presente manual.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|--|
| 1) Mano de mortero | 14) Papel de filtro |
| 2) Papel aluminio | 15) Tijeras |
| 3) Embudo | 16) Pinza |
| 4) Cinta adhesiva | 17) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 5) Rotulador | 18) Luz ultravioleta de 366 nm |
| 6) Lápiz y regla | 19) Cámara de sumersión
(frasco plástico de 250 ml) |
| 7) Viales de 10 ml | 20) Tolueno |
| 8) Juego de pipetas graduadas
(1 a 25 ml) | 21) Metanol |
| 9) Juego de frascos de vidrio de
laboratorio (25 a 100 ml) | 22) Acetato de etilo |
| 10) Placas Merck CCF de aluminio con
recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄
tamaño 5 x 10 cm | 23) Solución de ácido acético al 96% |
| 11) Microcapilares de vidrio
(2-µl de capacidad) | 24) Solución de ácido sulfúrico al 96% |
| 12) Cuba cromatográfica
(frasco de 500 ml) | 25) Balanza electrónica de bolsillo |
| 13) Plancha de calefacción | 26) Sustancia de referencia, p. ej. compri-
midos de 20 mg de artemetero com-
binadas con 120 mg de lumefantrina
o, alternativamente, artemetero en
forma de sustancia pura de proce-
dencia commercial |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

Si el estándar de referencia es un comprimido que contiene 20 mg de artemetero, puede que incluso combinado con 120 mg de lumefantrina, entonces envuelva el comprimido en papel de aluminio y trítúrelo con una mano de mortero hasta convertirlo en un polvo fino. Vacíe cuidadosamente el papel de aluminio en un frasco de laboratorio de 25 ml y lave todos los restos de sólidos con 4.5 ml de metanol seguido de 0.5 ml de solución de ácido acético al 96% con las pipetas rectas adecuadas. Cierre el frasco y agítelo durante unos tres minutos hasta que se haya disuelto la mayoría de los sólidos. Deje que la solución se repose durante cinco minutos más hasta que los residuos no disueltos se depositen debajo del líquido sobrante. Junto con la lumefantrina, la solución obtenida deberá contener 4 mg de artemetero total por ml y se etiquetará como 'Solución madre del estándar de artemetero'. Esta solución se volverá a preparar para cada ensayo. Continúe trabajando con el líquido claro o turbio sobrenadante.

Si el estándar de referencia de arteméter se presenta en forma de polvos de alta pureza cercana al 100%, entonces pese correctamente unos 0.3 g utilizando la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Además, disuelva el polvo en 67.5 ml de metanol seguido de 7.5 ml de solución de ácido acético al 96%, obteniendo así de nuevo una solución que contenga 4 mg de artemetero total por ml de disolvente de extracción. Ajuste la cantidad de disolvente de extracción cuando el resultado del pesaje difiera del peso objetivo. Para superar la inercia dinámica interna de la balanza y asegurar lecturas correctas, se deberá levantar el platillo de pesada o golpearlo con un bolígrafo o una espátula cada vez que se añadan o quiten unos pocos miligramos más. Para asegurar una disolución completa, se deberán observar los momentos de sacudida y de asiento, como se ha mencionado anteriormente. Etiquete como se ha indicado anteriormente. La solución final obtenida deberá ser clara, sin ningún sólido residual visible. Prepare esta solución fresca para cada ensayo.

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

Con una pipeta, introduzca 2 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añada 2 ml de metanol. Cierre y agite el vial. La solución obtenida deberá contener 2 mg de artemetero total por ml y se etiquetará como '*Solución estándar de trabajo de artemetero al 100%*'.

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

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

Se pipetea 2 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añade 3 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener 1.6 mg de artemetero total por ml y se rotula '*Solución estándar de trabajo de artemetero al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad, con contenido de artemetero 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 para un producto dado.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN COMPRIMIDO QUE DICE CONTENER 20 MG DE ARTEMETERO

Se toma un comprimido completo del producto farmacológico de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. Como se indicó anteriormente, el comprimido se envuelve en papel aluminio y se tritura hasta obtener un polvo fino. Se transfiere todo el polvo obtenido a un frasco de laboratorio de 25 ml. Para la extracción, se añaden 5 ml de metanol, seguidos de 0.55 ml de solución de ácido acético al 96% utilizando las pipetas graduadas apropiadas. 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 bajo el líquido sobrenadante.

COMPRIMIDO QUE DICE CONTENER 80 MG DE ARTEMETERO

Se toma un comprimido de muestra entero y se extrae el polvo obtenido con 20 ml de metanol seguido de 2.2 ml de solución de ácido acético al 96%, utilizando las pipetas rectas adecuadas y un frasco de laboratorio de 25 ml como recipiente de muestra. Continúe trabajando como se ha indicado en el párrafo anterior.

POLVO PARA SUSPENSIONES QUE DICE CONTENER 180 MG DE ARTEMETERO POR FRASCO

Se toma un frasco completo del producto farmacológico de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. Para la extracción se añaden al polvo en el frasco original 45 ml de metanol seguidos de 5 ml de solución de ácido acético al 96%, usando las pipetas graduadas apropiadas. Se cierra el frasco y se agita fuertemente la mezcla por unos tres minutos. Seguidamente 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 bajo el líquido sobrenadante.

POLVO PARA SUSPENSIONES QUE DICE CONTENER 360 MG DE ARTEMETERO POR FRASCO

Se toma un frasco completo del producto farmacológico de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. Para la extracción, se añaden al polvo en el frasco original 90 ml de metanol seguidos de 10 ml de solución de ácido acético al 96%, usando las pipetas graduadas apropiadas. Se cierra el frasco y se agita fuertemente la mezcla por unos tres minutos. Seguidamente 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 bajo el líquido sobrantes.

Además de la lumefantrina, todas las soluciones madre producidas deberán contener finalmente 3.6 mg de artemetero por ml y rotularse '*Solución madre de la muestra de artemetero*'. Las soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Se continúa el trabajo con los líquidos claros o turbios sobrenadantes.

Se deberá tener en cuenta que todas las soluciones madre de muestra de artemetero obtenidas pueden utilizarse para producir tanto las soluciones de muestra de trabajo de artemetero como de lumefantrina, siguiendo este protocolo y el protocolo de ensayo de lumefantrina de este manual.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Se pipetea 2.5 ml de la solución madre de la muestra a un vial de 10 ml y se añaden 2 ml de metanol. Se cierra, agita y rotula el vial como *'Solución de trabajo de la muestra de artemetero'*.

La concentración de artemetero que se espera obtener de esta solución de trabajo de la muestra es de 2 mg por ml y deberá corresponder a la concentración de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Marque una línea de origen paralela y a unos 1.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica y aplique 2 µl de cada solución de ensayo y del estándar como se muestra en la imagen de al lado, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

Hasta cinco manchas se pueden aplicar sobre una placa. Compruébese la uniformidad de las manchas utilizando luz ultravioleta de 254 nm. Aunque el artemetero por sí mismo permanezca invisible, los excipientes y demás componentes del medicamento se harán visibles para facilitar la identificación. Todas las manchas deberán tener forma circular y ser aplicadas equidistantes entre sí 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 a la diferente concentración 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 suavemente las manchas. Para ello, sujete la placa cromatográfica con las pinzas suministradas en el flujo de aire caliente justo encima de la plancha de calefacción durante unos 30 segundos.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Se pipetea 18 ml de tolueno, 4 ml de acetato de etilo y 2 ml de ácido acético al 96% al frasco a utilizarse como cuba cromatográfica. Se tapa la cuba y se mezcla muy bien. Se recubre la pared de la cuba con papel filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar la saturación de la cuba con el vapor del solvente. Cuidadosamente se coloca la placa CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente haya alcanzado aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. El tiempo de proceso será de unos 10 minutos. Se retira la placa de la cuba, se marca la línea del frente del solvente y se permite la evaporación del excedente de solvente. Para ello, sujete la placa cromatográfica con las pinzas suministradas en el flujo de aire caliente justo encima de la plancha de calefacción durante unos dos minutos.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Al trabajar con este tipo de medicamentos de combinaciones en dosis fijas, es mejor verificar la presencia de lumefantrina antes que la de artemetero, para lo cual se expone la placa CCF seca primero a la luz ultravioleta de 254 nm utilizando la lámpara a pilas suministrada para tal efecto.

Para la detección del contenido de artemetero, se expone la placa CCF al manchado con ácido sulfúrico mediante el siguiente procedimiento: se llena el vaso plástico de 250 ml de capacidad con 190 ml de metanol, seguidos de 10 ml de solución de ácido sulfúrico al 96% y se mezcla suavemente. Se deja reposar la mezcla para que enfríe. Utilizando una pinza se sumerge la placa CCF **al revés** en la solución de manchado, retirándola inmediatamente. Se deja escurrir el exceso de líquido sobre papel absorbente; luego se seca muy bien el reverso de la placa usando un papel suave de seda y se permite que la placa seque por completo colocándola sobre la placa caliente suministrada. Conforme se va calentando, las manchas de artemetero se van haciendo gradualmente visibles a la luz del día. Este método de detección se utiliza tanto para la identificación del artemetero como para su cuantificación. El procedimiento de manchado con ácido sulfúrico es muy similar al de manchado con ninhidrina ilustrado en la página 36 de este manual.

Habiendo realizado el manchado con ácido sulfúrico y observado la placa a la luz del día, es posible verificar la identidad y contenido del artemetero sometiendo la placa a luz ultravioleta de 366 nm en un cuarto oscuro.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM ANTES DEL MANCHADO

El artemetero se mantiene casi invisible y no deberán observarse otras manchas a no ser que se trate de un producto combinado. En este último caso, aparecerá una mancha de color violeta

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON ÁCIDO SULFÚRICO

Recorrido No.1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de artemetero

Recorrido No. 2:

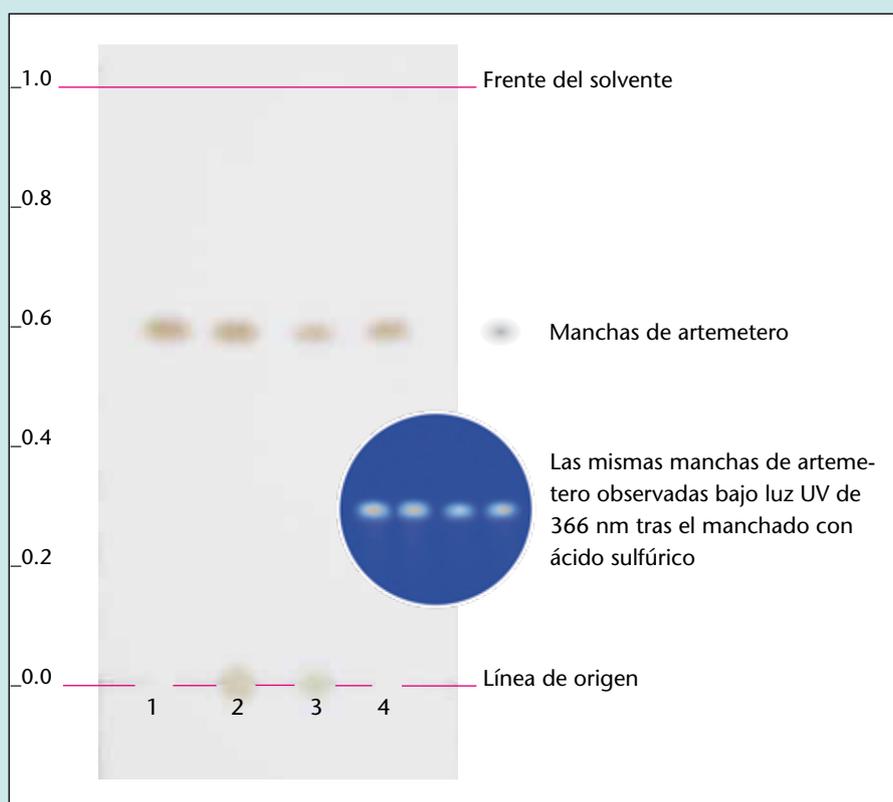
Fármaco de buena calidad con contenido aceptable de artemetero

Recorrido No. 3:

Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en artemetero

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de artemetero



intenso a una distancia de recorrido de aprox. 0.20 indicando la presencia de lumefantrina. En el caso del polvo para suspensiones orales, aparecerá una segunda mancha intensa a una distancia de recorrido entre 0.40 y 0.50 indicando la presencia de agentes conservantes del grupo de los parabenos o benzoatos. La sacarina sódica usada como endulcorante en los comprimidos dispersables se asentará a aprox. 0.20 pero se mantendrá por debajo del nivel de detección debido a la fuerte dilución en la preparación de las muestras. Para la mejor identificación del contenido de lumefantrina, consúltese la página 306 de este manual.

XII. OBSERVACIONES HECHAS A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON ÁCIDO SULFÚRICO

Una mancha de color marrón oscuro a una distancia de recorrido de aprox. 0.58 indica la presencia de artemetero en la solución de ensayo. Excipientes incorporados en los comprimidos y cápsulas pueden causar la aparición de manchas cerca a o sobre la línea de origen, aparte de los cuales no deben hacerse visibles otras manchas, ni aún en productos combinados de artemetero con lumefantrina. Manchas intensas adicionales generadas por la solución de ensayo indican la presencia de otros agentes activos o una degradación del artemetero, siendo este último caso más probable al ir asociados a una mancha principal de menor tamaño. Si aparece una mancha principal más pequeña en la solución de ensayo, esto también puede indicar que hay un bajo contenido de artemetero y si no queda ninguna mancha, significaría que no hay nada de artemetero.

XIII. OBSERVACIONES HECHAS A 366 NM TRAS EL MANCHADO CON ÁCIDO SULFÚRICO

Al observar la placa CCF bajo la luz UV de 366 nm habiéndola expuesto al manchado con ácido sulfúrico y al calor, se notará que todas las manchas marrones de artemetero observadas previamente a la luz del día presentarán una fluorescencia color crema.

XIV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de artemetero en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido a la obtenida con el cromatograma de las soluciones estándar alta y baja. Este 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 en el tercer ensayo. Para la determinación 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, fotografíe todos los resultados con una cámara digital con la luz de flash desactivada.

7.49 Eritromicina estearato

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios sobre métodos y operaciones generales, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido o cápsula suele contener estearato de eritromicina en cantidades equivalentes a 250 o 500 mg de base libre de eritromicina. Según la región geográfica,

se pueden observar dosis de 180 y 360 mg de base libre. Se sabe que existen otras formas de sal y dosis. Verifique el peso total de los comprimidos o el peso de llenado de las cápsulas utilizando la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Todas las formulaciones de comprimidos y cápsulas de eritromicina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración. Deben desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Es un defecto importante si una formulación de liberación instantánea no pasar este ensayo.

II. RESULTADOS Y 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 etiquetado en otros idiomas o almacenados en malas condiciones, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatográfica en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

La eritromicina estearato se extrae del polvo obtenido de comprimidos y capsulas con una cantidad conocida de metanol y se aplica la cromatografía en capa fina (CCF) para verificar la existencia y el contenido de estearato de eritromicina comparandolo con una sustancia de referencia adecuada.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- 1) Mano de mortero
- 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 de 2 µl de capacidad
- 12) Cuba cromatográfica (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 manchado con yodo
- 19) Acetato de etilo
- 20) Metanol
- 21) Amoníaco en solución al 25%
- 22) Solución de ácido acético al 96%
- 23) Sustancia de referencia, por ejemplo, comprimidos que contengan estearato de eritromicina en una cantidad equivalente a 250 o 500 mg de base libre de eritromicina

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como sustancia de referencia, por ejemplo, comprimidos con contenido de 347 o 694 mg de estearato de eritromicina, equivalente a 250 o 500 mg de eritromicina de base libre. Se envuelve la tableta usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Se desocupa cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 100 ml y se enjuagan todos los residuos con 25 o 50 ml de metanol, respectivamente, utilizando cada vez una pipeta graduada apropiada. 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, hasta que los residuos no disueltos se asienten en el fondo del frasco. La solución obtenida debe contener 10 mg eritromicina de base libre por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de eritromicina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio o clara sobrenadante obtenido.

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

La solución madre del estándar no requiere más disoluciones: ya representa la concentración final de trabajo de 10 mg de base libre de eritromicina por ml. Para hacer más fácil el manejo, podemos verter parte del líquido sobrenadante en un vial de 10 ml.

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

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

Se pipetea 4 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 1 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida debe contener 8 mg de base libre de eritromicina por ml y se debe rotular '*Solución estándar de trabajo de eritromicina al 80%*'.

Esta solución estándar representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de eritromicina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de contenido de fármaco representa el límite de concentración inferior aceptable para un producto dado.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 250 MG DE BASE LIBRE DE ERITROMICINA POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa del producto farmacológico de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. Como se indicó anteriormente, las tabletas 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 50 ml. El polvo obtenido de una cápsula debe vaciarse directamente en el frasco de extracción, seguido de las dos partes vacías que componen la cápsula. Para la extracción, se añaden 25 ml de metanol usando una pipeta graduada. 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.

360 MG DE BASE LIBRE DE ERITROMICINA (500 MG DE ESTEARATO DE ERITROMICINA) POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa de muestra y se extrae el polvo obtenido con 36 ml de metanol usando una pipeta graduada y un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml para mezclar y extracción. Se procede como se ha indicado arriba.

500 MG DE BASE LIBRE DE ERITROMICINA POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa de muestra y se extrae el polvo obtenido con 50 ml de metanol usando una pipeta graduada y un frasco de vidrio de laboratorio de 100 ml para mezclar y extracción. Se procede como se ha indicado arriba.

Todas las soluciones resultantes deberán contener 10 mg de base libre de eritromicina por ml y rotularse '*Solución madre de la muestra de eritromicina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio o clara sobrenadante obtenido.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Las soluciones madre de muestra de eritromicina no requieren ninguna otra dilución: ya representan la concentración de trabajo final de 10 mg de base libre de eritromicina por ml. Si se preparan a partir de un producto de alta calidad, estas soluciones de muestra de trabajo deben corresponder a la concentración de base libre de eritromicina descrita anteriormente para la solución estándar de trabajo superior.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Marque una línea de origen paralela y a unos 1.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica y aplique 2 µl de cada solución de ensayo y del estándar como se muestra en la imagen de al lado, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

En una placa se pueden aplicar hasta cinco muestras. Comprobar la uniformidad de las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Incluso si la eritromicina propiamente dicha permanece invisible, aparecerán algunos excipientes para facilitar la verificación. Todas las manchas deben tener forma circular y ser aplicados equidistantes entre sí sobre la línea de origen. Aunque su intensidad puede diferir, su diámetro no. Mientras que la diferencia en la intensidad se debe a la diferente cantidad de los residuos de excipientes o la cantidad de agente activo contenidos en las tabletas o de las cápsulas, una diferencia de diámetro resulta de la aplicación incorrecta. Se debe repetir el paso, si no se logra una aplicación homogénea la primera vez.

Seque suavemente las manchas. Para ello, mantenga la placa cromatográfica con las pinzas suministradas en la corriente de aire caliente justo encima de la plancha de calefacción durante unos 30 segundos.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

A) Verificación del contenido de estearato de eritromicina: poner con una pipeta 20 ml de metanol, 5 ml de acetato de etilo y 0.5 ml de solución de amoníaco al 25% en el frasco que se utiliza como cuba cromatográfica. Cierre la cuba y mezcle bien. Cubra la pared de la cuba con papel de filtro y espere unos 15 minutos para asegurar la saturación de la cuba con el vapor de disolvente. Coloque con cuidado la cromatoplaque cargada en el frasco. Cierre el frasco y desarrolle la placa hasta que el frente del disolvente haya alcanzado aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. El tiempo de proceso será de unos 15 minutos. Retire la placa de la cuba, marque el frente del disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore durante unos dos minutos en la plancha de calefacción suministrada.

B) Estearato de eritromicina en contraposición a la azitromicina: para que la diferencia en las distancias de desplazamiento entre ambos compuestos del fármaco sea más marcada, invierta el pH de la fase móvil desde arriba con 1 ml de solución de ácido acético al 96% y realice un segundo desarrollo con una nueva placa cromatográfica. Utilice el papel indicador del pH suministrado para verificar la acidez de la fase móvil después de sacudirla a conciencia. El papel amarillo indicador del pH deberá volverse por lo menos de color rojo pálido y deberá haber desaparecido el cualquier olor a amoníaco.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Seque todo el disolvente residual y exponga la placa cromatográfica al vapor de yodo durante un minuto. Retire la placa de la cámara de yodo y observe la placa a la luz del día. Utilice este método de detección para identificar y cuantificar tanto la eritromicina como la azitromicina.

Se puede lograr una mayor verificación de la identidad y el contenido de la eritromicina manchando la placa de yodo con ácido sulfúrico en el calor. Para ello, llene el vaso de plástico de 250 ml suministrado con 190 ml de metanol y luego con 10 ml de solución concentrada de ácido sulfúrico y mézclelo con cuidado. Deje que la mezcla se enfríe y sumerja la placa cromatográfica en la solución de manchado con un par de pinzas. Retire inmediatamente la placa y deje que el excedente de solución caiga en un papel tisú. Limpie el líquido residual de la parte posterior de la placa y continúe secando toda la solución de manchado de la plancha de calefacción suministrada. Durante el proceso de calentamiento, todas las manchas de eritromicina y azitromicina se irán haciendo gradualmente visibles a la luz del día.

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

Fase móvil A: una mancha fuerte de color marrón anaranjado a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.62 indica la presencia de estearato de eritromicina en la solución de ensayo. Otras manchas intensas adicionales creadas por la solución de ensayo indicarían la presencia de otros fármacos o la degradación de la eritromicina, siendo este último caso más probable cuando se asocia a una mancha principal más pequeña. Una mancha principal más pequeña de la solución de ensayo también puede ser un indicador de un contenido

PLACA CROMATOGRÁFICA DE LA FASE MÓVIL «A» VISTA A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON YODO

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de estearato de eritromicina

Recorrido No. 2:

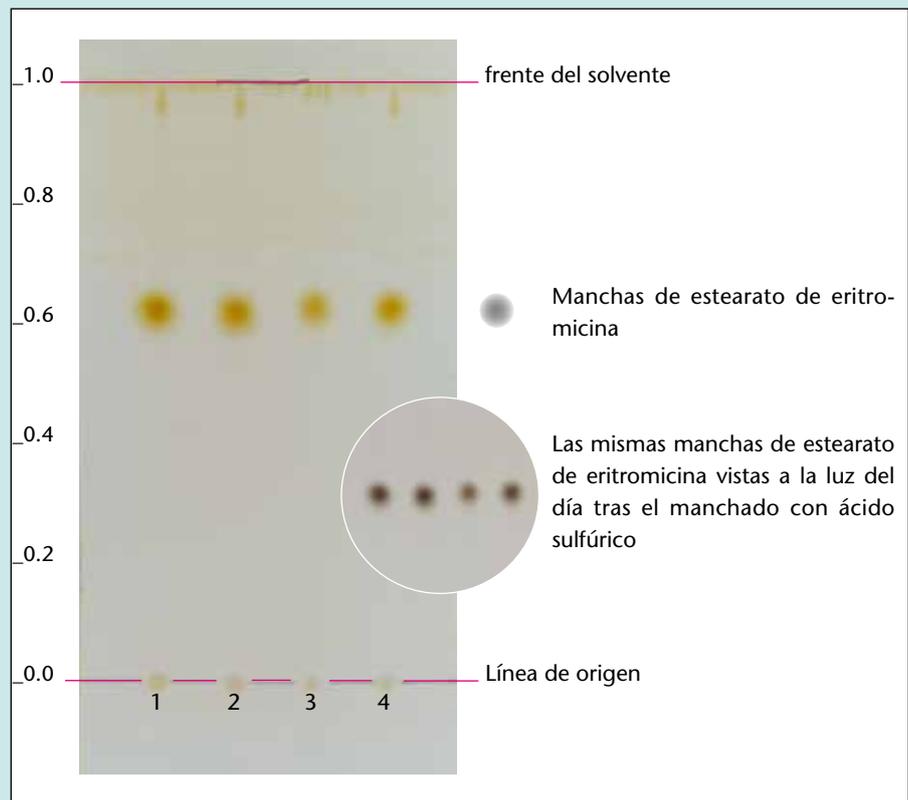
Fármaco de buena calidad con contenido aceptable de estearato de eritromicina

Recorrido No. 3:

Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en estearato de eritromicina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de estearato de eritromicina



bajo en estearato de eritromicina y si no hay ninguna mancha una ausencia total de eritromicina. Los agentes auxiliares incorporados a los diferentes productos acabados pueden causar algunas manchas más débiles que se desplazan a lo largo del frente del disolvente o que aparecen cerca o en la línea de origen. Siga observando la placa cuando el yodo se evapora. Las manchas que reflejan productos de mala calidad desaparecerán gradualmente primero, seguidas de las manchas de referencia que representan un contenido de fármaco de un 80 y un 100 por ciento, respectivamente.

Fase móvil B: las manchas de estearato de eritromicina corren en el frente situándose a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.38 seguido de manchas de azitromicina con un factor de retención relativo de aproximadamente 0.28. Las manchas de ambos compuestos muestran una forma diferente lo que ayuda a su identificación.

XII. OBSERVACIONES HECHAS A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON ÁCIDO SULFÚRICO

Cuando se expone la placa de yodo al ácido sulfúrico y al calor, todas las manchas de estearato de eritromicina ya observadas después del manchado de yodo se volverán ahora de color marrón oscuro o incluso negro. Esto es válido tanto para la fase móvil A como para la B. El mismo cambio de color puede observarse también para la azitromicina. Ambos compuestos de fármaco funcionan de manera muy potente. Por lo tanto, para obtener mejores resultados semicuantitativos después del manchado con ácido sulfúrico, las concentraciones de fármacos en las soluciones de trabajo deben dividirse en la mitad por lo menos.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de eritromicina en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido al cromatograma obtenido con las soluciones estándar alta y baja. Este 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 es rechazado, si el contenido del agente activo no puede verificarse en el tercer ensayo. Para obtener una segunda opinión, 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. Para documentar este hecho, saque fotos de todos los resultados con una cámara digital con la luz de flash desactivada.

7.52 Etambutol clorhidrato incl. combinaciones en dosis fijas usual

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos preliminares sobre métodos y operaciones generales, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido o cápsula suele contener de 100 a 400 mg de clorhidrato de etambutol. Se sabe que existen potencias de dosificación más altas, por ejemplo, 800 mg

de clorhidrato de etambutol. Verifique el peso total de los comprimidos o el peso de llenado de las cápsulas con la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Tanto si se combinan con otros agentes activos como si no, todas las formulaciones de comprimidos y cápsulas de etambutol de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Es una grave deficiencia si una formulación de liberación instantánea no pasa este ensayo.

II. RESULTADOS Y 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 etiquetado en otros idiomas o almacenados en malas condiciones, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatográfica en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

Tanto si se combina con otros agentes contra la tuberculosis como si no, el clorhidrato de etambutol se extrae de comprimidos y cápsulas con una cantidad conocida de metanol y se aplica la cromatografía en capa fina (CCF) para verificar la existencia y el contenido de clorhidrato de etambutol comparándolo con una sustancia de referencia adecuada. Cuando el etambutol se combina con rifampicina, isoniazida o pirazinamida, entonces, para realizar más ensayos, se deberán consultar también los protocolos pertinentes que se incluyen en este manual.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|---|--|
| 1) Mano de mortero | 13) Plancha de calefacción |
| 2) Papel aluminio | 14) Papel de filtro |
| 3) Embudo | 15) Tijeras |
| 4) Cinta adhesiva | 16) Pinza |
| 5) Rotulador | 17) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 6) Lápiz y regla | 18) Cámara de sumersión
(frasco plástico de 250 ml) |
| 7) Viales de 10 ml | 19) Ninhidrina |
| 8) Juego de pipetas graduadas
(1 a 25 ml) | 20) Metanol |
| 9) Juego de frascos de vidrio de
laboratorio (25 a 100 ml) | 21) Tolueno |
| 10) Placas Merck CCF de aluminio con
recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ ^r
tamaño 5 x 10 cm | 22) Amoníaco en solución al 25% |
| 11) Microcapilares de vidrio de 2 µl de
capacidad | 23) Solución de ácido acético al 96% |
| 12) Cuba cromatográfica
(frasco de 500 ml) | 24) Sustancia de referencia, p. ej. com-
primidos de etambutol clorhidrato de
400 mg |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como sustancia de referencia, por ejemplo, tabletas con contenido de 400 mg de etambutol clorhidrato. Se envuelve la tableta usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Se desocupa cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml y se enjuagan todos los residuos con 40 ml de metanol usando una pipeta graduada. Se cierra la botella 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, hasta que los residuos no disueltos se asienten en el

fondo del frasco. La solución obtenida debe contener 10 mg del agente activo por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de etambutol*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio sobrenadante o la dilución clara obtenida.

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

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 7 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener 1.25 mg del agente activo por ml y se debe rotular '*Solución estándar de trabajo de etambutol al 100%*'.

Esta solución estándar representa un fármaco de buena calidad con un contenido de 100% de etambutol clorhidrato.

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

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 bien el vial. La solución obtenida debe contener 1.0 mg del agente activo por ml y se debe rotular '*Solución estándar de trabajo de etambutol al 80%*'.

Esta solución estándar representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de etambutol clorhidrato de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de contenido de fármaco representa el límite de concentración inferior aceptable para un producto dado.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 100 MG DE ETAMBUTOL CLORHIDRATO POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa del producto farmacológico de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. Como se indicó anteriormente, las tabletas 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 una cápsula debe vaciarse directamente en el frasco de extracción, seguido de las dos partes vacías que componen la cápsula. Para la extracción, se añaden 10 ml de metanol usando una pipeta graduada. 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.

275 MG DE ETAMBUTOL CLORHIDRATO POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa de muestra y se extrae el polvo obtenido con 27.5 ml de metanol usando una pipeta graduada y un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml para mezclar y extracción. Se procede como se ha indicado arriba.

400 MG DE ETAMBUTOL CLORHIDRATO POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa de muestra y se extrae el polvo obtenido con 40 ml de metanol usando una pipeta graduada y un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml para mezclar y extracción. Se procede como se ha indicado arriba.

Ya sea que se combinen o no con otros agentes contra la tuberculosis, todas las soluciones resultantes deberán contener 10 mg de clorhidrato de etambutol total por ml y rotularse '*Solución madre de la muestra de etambutol*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio sobrenadante o la dilución clara obtenida.

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 7 ml de metanol. Se tapa y agita el vial y se rotula '*Solución de trabajo de la muestra de etambutol*'.

La concentración esperada de clorhidrato de etambutol en esta solución de trabajo es de 1.25 mg por ml y deberá corresponder a la concentración de clorhidrato de etambutol de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Marque una línea de origen paralela y a unos 1.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica y aplique 2 µl de cada solución de ensayo y del estándar como se muestra en la imagen de al lado, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

En una placa se pueden aplicar hasta cinco muestras. Comprobar la uniformidad de las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Incluso si el mismo etambutol permanece invisible, algunos excipientes aparecerán para facilitar la verificación. Todas las manchas deberán tener forma circular y estar situadas equidistantes entre sí en la línea de origen. Aunque su intensidad puede diferir, su diámetro no. Mientras que la diferencia en la intensidad se debe a la diferente cantidad de los residuos de excipientes o la cantidad de agente activo contenidos en las tabletas o de las cápsulas, una diferencia de diámetro resulta de la aplicación incorrecta. Se debe repetir el paso, si no se logra una aplicación homogénea la primera vez.

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

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Se pipetea 12 ml de metanol, 10 ml de tolueno y 0.5 ml de solución de amoníaco al 25% al frasco usado como cuba cromatográfica. Se cierra el frasco y se agita bien. Se cubren las paredes del frasco con papel de filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar que el interior del frasco se sature con los vapores de solvente. En el caso de combinaciones de fármacos en dosis fijas, justo antes de colocar la cromatoplaqueta cargada en el frasco, todo el espacio libre por encima de las manchas de la muestra en la línea de origen debe secarse de nuevo durante un minuto directamente sobre la plancha de calefacción, asegurando así que se trabaje con una plancha muy activa y que no tenga humedad. Después de la activación de la placa cromatográfica para la perfecta separación de los fármacos contra la tuberculosis, cuidadosamente se coloca la placa cromatográfica cargada en la cuba cromatográfica. Se cierra el frasco y se desarrolla la placa hasta que el frente del solvente haya alcanzado aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 15 minutos. Se retira la placa de la cuba, se marca la línea del frente del solvente y se permite la evaporación del excedente de solvente, en la plancha de calefacción suministrada durante unos dos minutos. No deberá quedar ningún olor a solución de amoníaco en la placa cromatográfica.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca el resto de la fase móvil y se observa la placa cromatográfica bajo luz ultravioleta de 254 nm usando la lámpara a pilas suministrada. Este método de detección se utiliza primero para el caso que el etambutol venga en combinación con otros agentes antituberculosos.

Para la detección del propio etambutol, se deberá secar bien la cromatoplaqueta hasta que desaparezca por completo el olor de la solución de amoníaco. Después, exponga la cromatoplaqueta al manchado de ninhidrina como se indica en la página 36 de este manual. Para tal efecto, se disuelven 3 g de ninhidrina (aprox. 10 espátulas colmadas) en una mezcla de 150 ml de metanol y 30 ml de solución de ácido acético al 96%. Se utiliza el vaso plástico suministrado para contener la solución de manchado. Esto permite la sumersión de la placa cromatográfica en la solución usando la pinza. Inmediatamente se retira la placa del vaso y se seca el reverso de la placa con papel tisú. Se continúa el secado de la solución colorante con una plancha de calefacción y se observa como las manchas de etambutol se tornen gradualmente visibles. Se utiliza este método de detección para identificar y cuantificar el etambutol. El manchado con ninhidrina hará imposible observar las manchas de isoniazida o pirazinamida bajo luz ultravioleta de 254 nm.

Se debe tener en cuenta que la piel expuesta a la ninhidrina se manchará también, sin embargo esto no representa un riesgo para la salud y las manchas de color azul-violeta desaparecerán al cabo de unos dos días.

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON NINHIDRINA

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de etambutol

Recorrido No. 2:

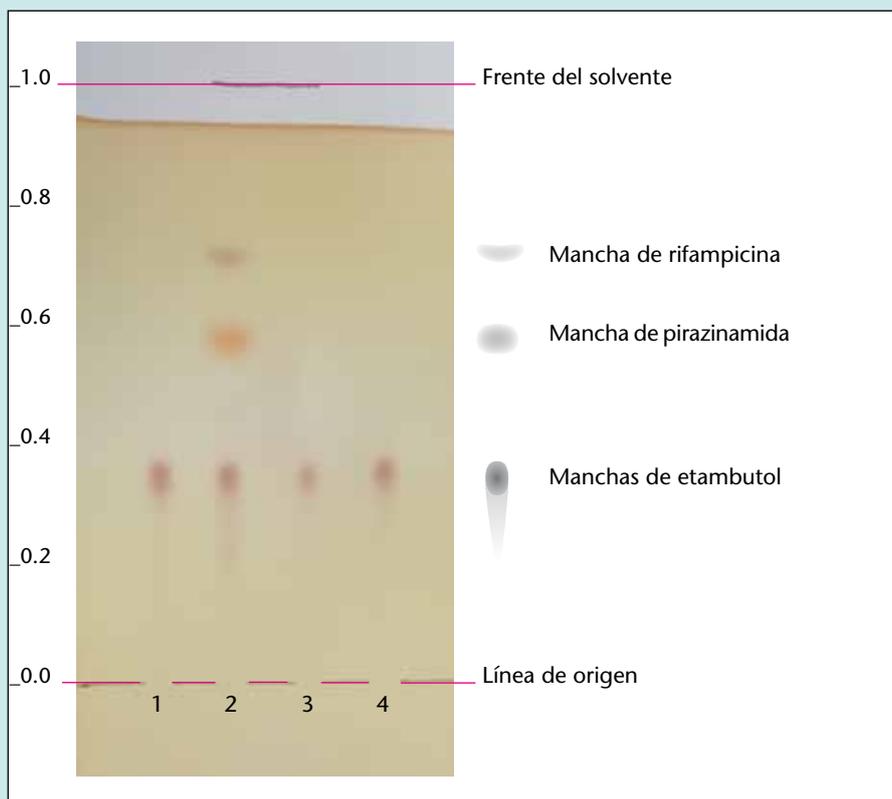
Combinación en dosis fija de buena calidad con contenido aceptable de etambutol

Recorrido No. 3:

Producto con fármaco único de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en etambutol

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de etambutol



XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

El etambutol permanece invisible y no deben detectarse otras manchas, a no ser que el medicamento investigado sea un producto combinado de dosis fija conteniendo otros compuestos antituberculosos. En este último caso, las manchas de isoniazida se harán visibles a una distancia de recorrido de aprox. 0.45 y las manchas de pirazinamida a una distancia de recorrido de aprox. 0.57. Las manchas de rifampicina se harán visibles a la simple luz del día a una distancia de recorrido de aprox. 0.72 (véase también la imagen que aparece en la página 389).

XII. OBSERVACIONES HECHAS A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON NINHIDRINA

Una mancha roja a una distancia de recorrido de aprox. 0.34 indica la presencia de etambutol en la solución de ensayo. Además del etambutol, también se harán visibles la rifampicina y la pirazinamida. Manchas fuertes adicionales generadas por la solución de ensayo indican la presencia de otros agentes activos o una degradación del etambutol, especialmente si en este último caso vienen asociados a una mancha principal más pequeña. Una mancha principal más pequeña de la solución de ensayo también puede indicar un bajo contenido de etambutol y si no hay ninguna mancha, significaría una ausencia total de etambutol. Los agentes auxiliares incorporados en los diferentes productos acabados pueden causar algunas manchas más débiles que se desplazan a lo largo del frente del disolvente o que emergen cerca o en la línea de origen.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de etambutol en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido al cromatograma obtenido con las soluciones estándar alta y baja. Este 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 es rechazado, si el contenido del agente activo no puede verificarse en el tercer ensayo. Para obtener una segunda opinión, 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. Para documentar el proceso, haga fotografías de todas las lecturas con una cámara digital apagando primero el flash.

7.66 Lamivudina incl. combinaciones en dosis fijas usual

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios sobre métodos y operaciones generales, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido o cápsula suele contener 30, 60, 150 o 300 mg de lamivudina. Las soluciones apropiadas para la administración oral suelen venir en una dosis de 10 mg de lamivudina por ml. Generalmente, la lami-

udina se combina con otros medicamentos antirretrovirales. Verifique el peso total de los comprimidos o el peso de llenado de las cápsulas con la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Tanto si se combina con otros medicamentos como si no, todas las formulaciones de comprimidos y cápsulas de lamivudina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración. Deben desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Es un defecto importante si una formulación de liberación instantánea no pasa este ensayo.

II. RESULTADOS Y 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 etiquetado en otros idiomas o almacenados en malas condiciones, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatográfica en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

Tanto si se combinan con otros medicamentos antirretrovirales como si no, las soluciones de lamivudina se diluyen y los comprimidos o cápsulas se extraen con una cantidad conocida de agua y se aplica la cromatografía en capa fina (CCF) para verificar la existencia y el contenido de lamivudina, comparándolo con un estándar de referencia adecuado. Cuando la lamivudina se combina con nevirapina, stavudina, zidovudina, efavirenz o tenofovir, se deben consultar también los protocolos apropiados que se indican en este manual para realizar más ensayos.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- 1) Mano de mortero
- 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 de 2 µl de capacidad
- 12) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml)
- 13) Plancha de calefacción
- 14) Papel de filtro
- 15) Tijeras
- 16) Pinza
- 17) Luz ultravioleta de 254 nm
- 18) Acetato de etilo
- 19) Metanol
- 20) Tolueno
- 21) Agua
- 22) Sustancia de referencia, p. ej. comprimidos de lamivudina de 150 mg

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como sustancia de referencia, por ejemplo, tabletas con contenido de 150 mg de lamivudina. Se envuelve la tableta usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Se desocupa cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml y se enjuagan todos los residuos con 30 ml de agua usando una pipeta graduada. Se cierra la botella 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, hasta que los residuos no disueltos se asienten en el fondo del frasco. La solución obtenida debe contener 5 mg del agente activo por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de lamivudina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio sobrenadante o la dilución clara obtenida.

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

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 3 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida debe contener 1.25 mg del agente activo por ml y debe ser rotulada '*Solución estándar de trabajo de lamivudina al 100%*'.

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

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

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 4 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida debe contener 1.0 mg del agente activo por ml y se debe rotular '*Solución estándar de trabajo de lamivudina al 80%*'.

Esta solución estándar representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de lamivudina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de contenido de fármaco representa el límite de concentración inferior aceptable para un producto dado.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA DE FORMAS SÓLIDAS QUE DICEN CONTENER 30 MG DE LAMIVUDINA POR UNIDAD

Se toman dos (!) tabletas o cápsulas completas del producto farmacológico de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. Como se indicó anteriormente, las tabletas 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 contenido en las cápsulas debe vaciarse directamente en el frasco, añadiendo después las partes vacías que conforman la cubierta de la cápsula. Para la extracción, se añaden 12 ml de agua usando una pipeta graduada. 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 no disueltos se asienten en el fondo del frasco.

FORMAS SÓLIDAS QUE DICEN CONTENER 60 MG DE LAMIVUDINA POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa y se extrae el polvo obtenido con 12 ml de agua usando una pipeta graduada y un frasco de laboratorio de 25 ml para mezclar y para la extracción. Se sigue el procedimiento indicado arriba.

FORMAS SÓLIDAS QUE DICEN CONTENER 150 MG DE LAMIVUDINA POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa y se extrae el polvo obtenido con 30 ml de agua usando una pipeta graduada y un frasco de laboratorio de 50 ml para mezclar y para la extracción. Se sigue el procedimiento indicado arriba.

FORMAS SÓLIDAS QUE DICEN CONTENER 300 MG DE LAMIVUDINA POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa y se extrae el polvo obtenido con 60 ml de agua usando una pipeta graduada y un frasco de laboratorio de 100 ml para mezclar y para la extracción. Se sigue el procedimiento indicado arriba.

FORMAS LÍQUIDAS QUE DICEN CONTENER 10 MG DE LAMIVUDINA POR ML

Se transfieren 2 ml de la solución presentada a un frasco de laboratorio de 10 ml y se diluyen con 2 ml de agua utilizando las pipetas graduadas apropiadas. Se cierra el frasco y se agita bien la mezcla.

Ya sea que se combinen o no con otros principios activos, todas las soluciones resultantes deberán contener 5 mg de lamivudina total por ml y rotularse '*Solución madre de la muestra de lamivudina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio sobrenadante o la dilución clara obtenida.

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 3 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución se rotula '*Solución de trabajo de la muestra de lamivudina*'.

La concentración esperada de lamivudina en esta solución de trabajo de la muestra deberá ser de 1.25 mg por ml y corresponder a la concentración de lamivudina de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Marque una línea de origen paralela y a unos 1.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica y aplique 2 µl de cada solución de ensayo y del estándar como se muestra en la imagen de al lado, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

En una placa se pueden aplicar hasta cinco muestras. Comprobar la uniformidad de las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deberán tener forma circular y estar situadas de manera equidistante entre sí en la línea de origen. Aunque su intensidad puede diferir, su diámetro no. Mientras que la diferencia en la intensidad se debe a la diferente cantidades residuales de los excipientes o a las diferentes concentraciones y combinaciones de fármacos en las soluciones de la muestra, una diferencia de diámetro resulta de la aplicación incorrecta. Se debe repetir el paso, si no se logra una aplicación homogénea la primera vez.

Se debe tener presente, que el llenado y vaciado de las pipetas microcapilares puede requerir de cierto tiempo al trabajarse con soluciones de ensayo acuosas. Como las trazas de agua pueden producir manchas borrosas y largas, se deberá secar completamente el solvente de extracción antes de desarrollar la placa cromatográfica. Para ello, sostenga la placa cromatográfica con las pinzas en la corriente de aire caliente justo encima de la plancha de calefacción durante unos 30 segundos. Cuando la lamivudina se combina con el tenofovir, se deberán secar con cuidado las manchas moviendo la placa cromatográfica hacia atrás y hacia delante en el aire. Cualquier uso de la plancha de calefacción conducirá a la degradación instantánea del complejo de fumarato disoproxilo de tenofovir termolábil y deberá evitarse en todo momento.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Se pipetea 11 ml de acetato de etilo, 5 ml de metanol y 4 ml de tolueno al frasco usado como cuba cromatográfica. Se cierra el frasco y se agita bien. Se cubren las paredes del frasco con papel de filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar que el interior del frasco se sature con los vapores de solvente. Cuidadosamente se coloca la placa cromatográfica cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente haya alcanzado aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. El tiempo de proceso será de unos 15 minutos. Se retira la placa de la cuba, se marca la línea del frente del solvente y se permite la evaporación del excedente de solvente, usando la plancha de calefacción de ser necesario.

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de lamivudina

Recorrido No. 2:

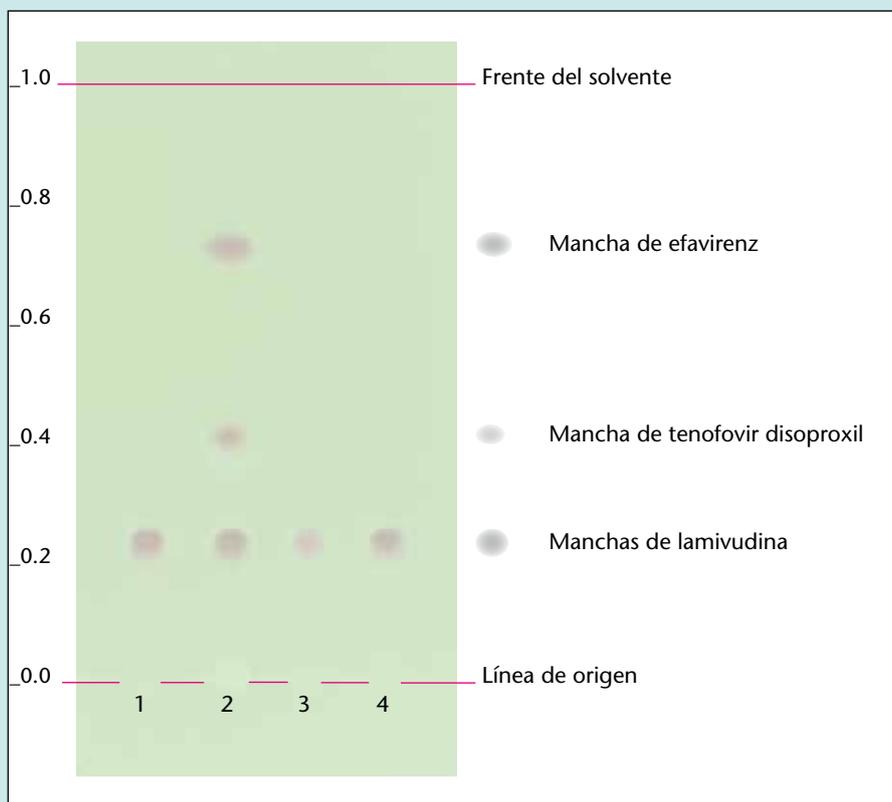
Combinación en dosis fija de buena calidad con contenido aceptable de lamivudina

Recorrido No. 3:

Producto con fármaco único de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en lamivudina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de lamivudina



X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca el resto de la fase móvil y se observa la placa cromatográfica bajo luz ultravioleta de 254 nm usando la lámpara de pilas suministrada. Se utiliza este método tanto para el proceso de identificación como para la verificación cuantitativa.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una intensa mancha azul-violeta a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.23 indica la presencia de lamivudina en la solución de ensayo. Si se combina con otros medicamentos antirretrovirales, una mancha con un factor de retención relativo de alrededor de 0.42 indicaría además la presencia de disoproxil de tenofovir, una mancha a alrededor de 0.62 la presencia de nevirapina o zidovudina y una mancha a alrededor de 0.72 la presencia de efavirenz. Manchas intensas adicionales generadas por la solución de ensayo apuntarían de otros fármacos o a la disgregación de la lamivudina, siendo este último caso más probable cuando se asocia a una mancha principal más pequeña. Una mancha principal más reducida también podría deberse a un bajo contenido de lamivudina y si no hay ninguna mancha significa que no tiene lamivudina. Los agentes auxiliares incorporados en los diferentes productos acabados podrían causar algunas manchas más ligeras que emergen cerca de la línea de origen o en ella.

XII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de lamivudina en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido al cromatograma obtenido con las soluciones estándar alta y baja. Este 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 es rechazado, si el contenido del agente activo no puede verificarse en el tercer ensayo. Para obtener una segunda opinión, 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. Para documentar este hecho, saque una foto de los resultados con una cámara digital con el flash apagado.

7.91 Primaquina difosfato

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios sobre métodos y operaciones generales, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido o cápsula suele contener unos 8.75, 13.15 o 26.3 mg de primaquina difosfato. Esto se traduce en las afirmaciones de la etiqueta de 5, 7.5 o 15 mg de base libre de primaquina,

respectivamente. El contenido de una cápsula o la matrice interna de un comprimido debe ser de color marrón anaranjado. Verifique el peso total de los comprimidos o el peso de llenado de las cápsulas utilizando la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Todas las formulaciones de comprimidos y cápsulas de primaquina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Es un defecto importante si una formulación de liberación instantánea no pasa este ensayo.

II. RESULTADOS Y 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 etiquetado en otros idiomas o almacenados en malas condiciones, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatográfica en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

La primaquina fosfato se extrae de tabletas y cápsulas con una cantidad conocida de agua y se aplica la cromatografía en capa fina (CCF) para verificar la existencia y el contenido de primaquina comparándolo con una sustancia de referencia adecuada.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|---|--|
| 1) Mano de mortero | 14) Papel de filtro |
| 2) Papel aluminio | 15) Espátula |
| 3) Embudo | 16) Tijeras |
| 4) Cinta adhesiva | 17) Pinzas |
| 5) Rotulador | 18) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 6) Lápiz y regla | 19) Cámara de sumersión
(frasco plástico de 250 ml) |
| 7) Viales de 10 ml | 20) Cámara de manchado con yodo |
| 8) Juego de pipetas graduadas
(1 a 25 ml) | 21) Agua |
| 9) Juego de frascos de vidrio de laboratorio
(25 a 100 ml) | 22) Metanol |
| 10) Placas Merck CCF de aluminio con
recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ ^r
tamaño 5 x 10 cm | 23) Ninhidrina |
| 11) Microcapilares de vidrio de 2 µl de
capacidad | 24) Acetato de etilo |
| 12) Cuba cromatográfica
(frasco de 500 ml) | 25) Amoníaco en solución al 25% |
| 13) Plancha de calefacción | 26) Solución de ácido acético al 96% |
| | 27) Balanza electrónica de bolsillo |
| | 28) Sustancia de referencia, p. ej. prima-
quina difosfato en forma de sustancia
pura de procedencia comercial |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar precisa de primaquina difosfato como sustancia pura o materia prima apropiada de gran pureza con fines de referencia. Ponga un trozo de papel de aluminio en el platillo de la balanza electrónica de bolsillo suministrada, ponga a cero la balanza y pese exactamente unos 0.3 g de primaquina difosfato con una espátula. Vacíe con cuidado el papel de aluminio sobre un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y lave todo el polvo obtenido con 17.1 ml de agua con una pipeta graduada. Anote cada vez el resultado exacto de la medición y ajuste adecuadamente la cantidad de agua para la disolución, por ejemplo utilizando 16.5 ml de agua cuando se hayan recogido 0.29 g o 18.2 ml de agua cuando se hayan recogido 0.32 g de estándar de referencia del recipiente a

granel. Cierre el frasco de laboratorio y agítelo hasta que se hayan disuelto todos los sólidos. Siempre que la pureza del estándar de referencia sea próxima al 100%, la solución final obtenida deberá contener unos 10 mg de primaquina total por base libre por ml y se etiquetará como '*Solución madre del estándar de primaquina*'. Prepare esta solución para cada ensayo.

Indicación importante: La balanza suministrada no puede gestionar de manera óptima cantidades inferiores a 0.25 g. La variación estándar relativa de +/- 2% se considera excesiva. Con cantidades superiores medidas, la variación desciende tan solo a aproximadamente +/- 1%. Además, la balanza no captará fácilmente los cambios de unos pocos miligramos que se añadan o se quiten cuando se aproxime gradualmente y con cuidado al peso objetivo de 0.3 g. Por lo tanto, levante el papel de aluminio o golpee el platillo de la balanza con un bolígrafo o una espátula cada vez que se añadan o quiten unos pocos miligramos más, superando así cualquier inercia dinámica y asegurando los resultados correctos.

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

Pipetee 1 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añada 9 ml de agua. Cierre y agite el vial. La solución obtenida debe contener 1 mg del agente activo por ml y estar etiquetada como '*Solución estándar de trabajo de primaquina al 100%*'.

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

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

Pipetee 1 ml de la solución madre del estándar en un vial de 25 ml y añada 11.5 ml de agua. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida debe contener 0.8 mg del agente activo por ml y se debe rotular '*Solución estándar de trabajo de primaquina al 80%*'.

Esta solución estándar representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de primaquina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de contenido de fármaco representa el límite de concentración inferior aceptable para un producto dado.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 5 MG DE PRIMAQUINA POR UNIDAD

Se toma un comprimido o capsula completa del producto farmacológico de las muestras seleccionadas durante el trabajo de campo. Como se indicó anteriormente, las tabletas 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 una cápsula debe vaciarse directamente en el frasco de extracción, seguido de las dos partes vacías que componen la cápsula. Para la extracción, se añaden 5 ml de agua usando una pipeta graduada. 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.

7.5 MG DE PRIMAQUINA POR UNIDAD

Se toma un comprimido o capsula completa y se extrae el polvo obtenido con 7.5 ml de agua usando una pipeta graduada y un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml para mezclar y extracción. Se procede como se ha indicado arriba.

15 MG DE PRIMAQUINA POR UNIDAD

Se toma un comprimido o cápsula completa y se extrae el polvo obtenido con 15 ml de agua usando una pipeta graduada y un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml para mezclar y extracción. Se procede como se ha indicado arriba.

Todas las soluciones resultantes deberán contener 1 mg de primaquina total por ml y rotularse '*Solución madre de la muestra de primaquina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio sobrenadante o la dilución clara obtenida.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Las soluciones madre de las muestras de primaquina no requieren de dilución posterior, ya que representan la concentración final de 1 mg del agente activo por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, la concentración de primaquina de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de primaquina de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Marque una línea de origen paralela a unos 1.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica y aplique 2 µl de cada solución de ensayo y del estándar como se muestra en la imagen de al lado, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

En una placa se pueden aplicar hasta cinco muestras. Comprobar la uniformidad de las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deberán tener forma circular y estar situadas equidistantes entre sí en la línea de origen. Aunque su intensidad puede diferir, su diámetro no. Mientras que la diferencia en la intensidad se debe a la diferente cantidad de los residuos de excipientes o la cantidad de agente activo contenidos en las tabletas o de las cápsulas, una diferencia de diámetro resulta de la aplicación incorrecta. Se debe repetir el paso, si no se logra una aplicación homogénea la primera vez.

Debe tenerse en cuenta que el llenado y vaciado de los microcapilares puede requerir de más tiempo al trabajar con soluciones acuosas de la muestra. Como los rastros de agua están causando manchas borrosas alargadas, se secará completamente todo el solvente de extracción antes de desarrollar la cromatopla. Para ello, sostenga la cromatopla con un par de pinzas en la corriente de aire caliente justo por encima de la plancha de calefacción durante aproximadamente un minuto.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Se pipetea 20 ml de metanol, 5 ml de acetato de etilo y 0.5 ml de solución de amoníaco al 25% al frasco usado como cuba cromatográfica. Se cierra el frasco y se agita bien. Se cubren las paredes del frasco con papel de filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar que el interior del frasco se sature con los vapores de solvente. Cuidadosamente se coloca la placa cromatográfica cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente haya alcanzado aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. El tiempo de proceso será de unos 15 minutos. Se retira la placa de la cuba, se marca la línea del frente del solvente y se permite la evaporación del excedente de solvente, usando durante unos dos minutos la plancha de calefacción suministrada.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Seque todo el disolvente residual y exponga la cromatopla a una luz UV de 254 nm con la lámpara a pilas que se suministra. Utilice este método de detección para identificar y cuantificar la primaquina. Se puede lograr una mayor verificación de la identidad y el contenido del fármaco si se observa la placa a la luz del día después del manchado con yodo.

Como alternativa al manchado con yodo, también es posible colorear las manchas con ninhidrina. Para ello, se pesan 3 g de ninhidrina (unas 10 veces una espátula bien llena) y se disuelven en una mezcla de 150 ml de metanol y 30 ml de ácido acético glacial al 96%. Sumerja la cromatopla en la solución de manchado con un par de pinzas. Vuelva a retirar inmediatamente la placa de la solución y deje que el líquido sobrante se escurra hacia el papel. Retire el líquido residual del reverso de la placa y continúe secando toda la solución de manchado por completo sobre la plancha de calefacción suministrada. Durante el calentamiento, todas las manchas de primaquina se irán haciendo visibles gradualmente a la luz del día después de un minuto aproximadamente. El proceso de manchado se describe en la página 36 de este manual. Tenga en cuenta que la piel que esté en contacto con la solución de ninhidrina también se teñirá. Sin embargo, esto no es peligroso para la salud y las manchas violetas desaparecerán después de uno o dos días.

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de primaquina

Recorrido No. 2:

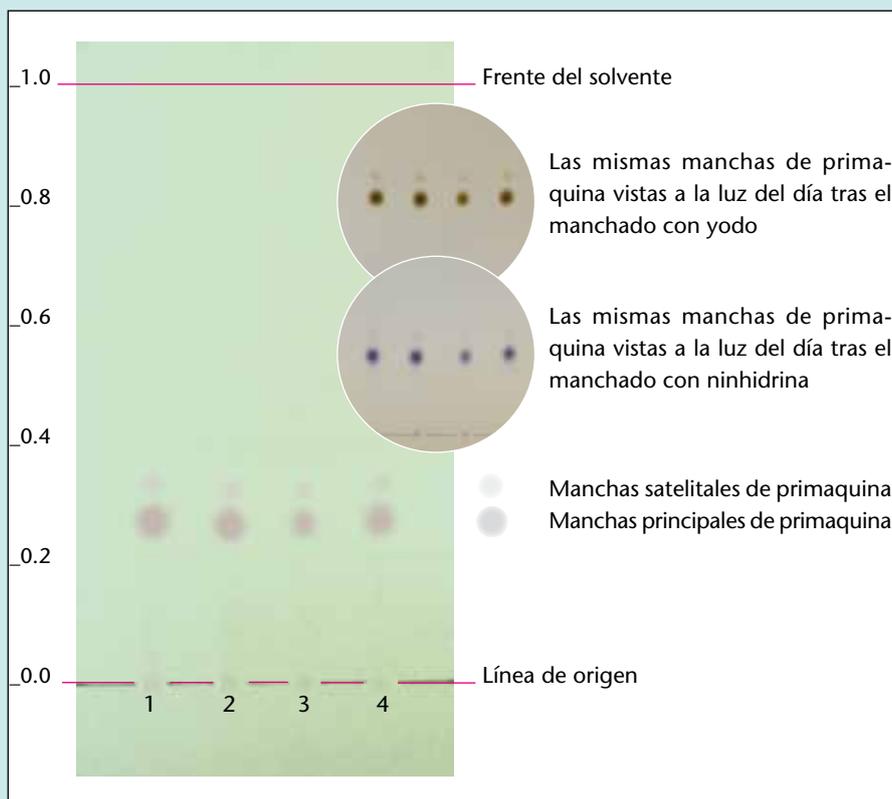
Fármaco de buena calidad con contenido aceptable de primaquina

Recorrido No. 3:

Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en primaquina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de primaquina



XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha azul-violeta intensa a una distancia de recorrido de aprox. 0.27, combinada con un mancha satélite justo encima de la mancha principal indica la presencia de primaquina en la solución de ensayo. Manchas fuertes adicionales generadas por la solución de ensayo indican la presencia de otros agentes activos o una degradación de la primaquina, siendo este último caso más probable al verse asociados a una mancha principal más pequeña. Una mancha principal más pequeña de la solución de ensayo también puede indicar un bajo contenido de primaquina y si no hay ninguna mancha, significa que existe una ausencia total de primaquina.

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

Al exponer la cromatopla al vapor de yodo, todas las manchas ya observadas a 254 nm se vuelven ahora de color negro verdoso. La primaquina actúa con fuerza y el color se mantiene estable. Los agentes auxiliares incorporados en los diferentes productos acabados pueden causar algunas manchas más tenues que se desplazan a lo largo del frente del disolvente o que emergen cerca o en la línea de origen.

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

Cuando se expone una segunda cromatopla a la ninhidrina y al calor, todas las manchas de primaquina observadas previamente a la luz UV de 254 nm se vuelven ahora de color lila. Esto facilitará la lectura e interpretación de los ensayos.

XIV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de primaquina en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido al cromatograma obtenido con las soluciones estándar alta y baja. Este 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 es rechazado, si el contenido del agente activo no puede verificarse en el tercer ensayo. Para obtener una segunda opinión, 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. Para documentar el proceso, haga fotos de todos los resultados con una cámara digital desactivando primero el flash.

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido o cápsula suele contener 300 mg de sulfato de quinina. Se sabe que existen diferentes potencias de 100, 200, 250 y 500 mg de sulfato de quinina. Diversos preparados pueden presentar la quinina en diferentes formas de sal, en las que la cantidad de 100 mg de base libre de quinina equivale a unos 121 mg de sulfato

de quinina, 122 mg de dihidrocloruro de quinina, 122 mg de clorhidrato de quinina dihidratado y 170 mg de bisulfato de quinina. La dosis que habitualmente aparece en las etiquetas de los productos suele referirse a la sal de quinina y no a la base libre. Las soluciones inyectables de quinina deben ser claras y libres de partículas. Verifique el peso total de los comprimidos o el peso de llenado de las cápsulas utilizando la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Todas las formulaciones de comprimidos y cápsulas de quinina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Es un defecto im-

portante si una formulación de liberación instantánea no pasa este ensayo.

II. RESULTADOS Y 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 etiquetado en otros idiomas o almacenados en malas condiciones, deberán ser sometidos a un ensayo de cromatográfica en capa fina.

Verificación de la identidad y la cantidad mediante cromatografía en capa fina

I. PRINCIPIO

Las soluciones inyectables de quinina se diluyen y a las tabletas o cápsulas se extraen con una cantidad conocida de metanólica y se aplica la cromatografía en capa fina (CCF) para verificar la existencia y el contenido de quinina comparándolo con una sustancia de referencia adecuada. Las diluciones son las mismas para quinina sulfato o cualquiera de las formas de sales de clorhidrato, ya que su contenido de quinina como base libre es virtualmente la misma cada vez. Deben hacerse ajustes para bisulfatos u otras sales poco comunes de quinina. Estos productos no forman parte de este protocolo.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|---|
| 1) Mano de mortero | 13) Plancha de calefacción |
| 2) Papel aluminio | 14) Papel de filtro |
| 3) Embudo | 15) Tijeras |
| 4) Cinta adhesiva | 16) Pinza |
| 5) Rotulador | 17) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 6) Lápiz y regla | 18) Luz ultravioleta de 366 nm |
| 7) Viales de 10 ml | 19) Cámara de manchado con yodo |
| 8) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 20) Metanol |
| 9) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 21) Amoníaco en solución al 25% |
| 10) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 22) Balanza electrónica de bolsillo |
| 11) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad | 23) Sustancia de referencia, por ejemplo, comprimidos de 300 mg de sulfato de quinina o, alternativamente, sal de hemisulfato de quinina monohidratada como sustancia pura procedente de fuentes comerciales. |
| 12) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) | |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

Si se suministran comprimidos de referencia que contienen 300 mg de sulfato de quinina, entonces envuelva un comprimido en papel de aluminio y tritúrelo hasta convertirlo en un polvo fino con una mano de mortero. Vacíe con cuidado el contenido del papel de aluminio en un frasco de laboratorio de 50 ml y lave todos los sólidos residuales con 30 ml de metanol utilizando una pipeta graduada. Cierre el frasco y agite bien durante unos tres minutos hasta que se disuelva la mayor parte de los sólidos. Deje que la solución se asiente durante cinco minutos más hasta que los residuos no disueltos se depositen debajo del

líquido sobrante. La solución obtenida debe contener 10 mg de sulfato de quinina total o unos 8.3 mg de base libre de quinina por ml y estar etiquetada como '*Solución madre del estándar de quinina*'. Esta solución debe prepararse de nuevo para cada ensayo. Continúe trabajando con el líquido turbio sobrante.

Si los comprimidos de referencia son reemplazados por sal de hemisulfato de quinina monohidratada de alta pureza cercana al 100%, entonces pese exactamente alrededor de 0.3 g de sustancia pura usando la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Trasladar todo el polvo a un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml y disolverlo en 30 ml de metanol para obtener de nuevo una solución que contenga 10 mg de sulfato de quinina por ml de disolvente de extracción. Agitar bien hasta que todo el polvo se haya disuelto completamente. Ajustar la cantidad de metanol cuando el resultado del pesaje difiera del peso objetivo. Para superar la inercia dinámica de la balanza y asegurar resultados correctos, levante el platillo de pesada o dé un golpecito con un bolígrafo o una espátula cada vez que se añadan o quiten unos pocos miligramos más. Para asegurar la completa disolución, observe los tiempos de agitación y reposo como se ha indicado anteriormente. Etiquetar como se ha mencionado anteriormente. Prepare esta solución para cada ensayo. La solución final obtenida debe ser clara, sin ningún sólido residual visible. Agítese con más fuerza si no se logra la primera vez.

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

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 7 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida debe contener 1.25 mg de quinina sulfato ó aprox. 1.0 mg de quinina como base libre por ml y debe ser rotulada '*Solución estándar de trabajo de quinina al 100%*'.

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

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

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 bien el vial. La solución obtenida debe contener 1.0 mg de quinina sulfato ó aprox. 0.8 mg de quinina como base libre por ml y debe ser rotulada '*Solución estándar de trabajo de quinina al 80%*'.

Esta solución estándar representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de quinina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de contenido de fármaco representa el límite de concentración inferior aceptable de para un producto dado.

VI. PREPARACION DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 200 MG DE QUININA SULFATO O CLORHIDRATO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA

Se toma una tableta o cápsula completa del producto farmacológico de las muestras obtenidas durante el trabajo de campo. Como se indicó anteriormente, las tabletas 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 una cápsula debe vaciarse directamente en el frasco de extracción, seguido de las dos partes vacías que componen la cápsula. Para la extracción, se añaden 20 ml de metanol con una pipeta graduada, se cierra el frasco y se agita durante 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.

250 MG DE QUININA SULFATO O CLORHIDRATO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA

Se toma una tableta o cápsula completa y se extrae el polvo obtenido con 25 ml de metanol usando la pipeta graduada apropiada y un frasco de laboratorio de 50 ml para mezclar y extracción. Se sigue el procedimiento indicado arriba.

300 MG DE QUININA SULFATO O CLORHIDRATO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA

Se toma una tableta o cápsula completa y se extrae el polvo obtenido con 30 ml de metanol usando la pipeta graduada apropiada y un frasco de laboratorio de 50 ml para mezclar y extracción. Se sigue el procedimiento indicado arriba.

500 MG DE QUININA SULFATO O CLORHIDRATO POR COMPRIMIDO O CÁPSULA

Se toma una tableta o cápsula completa y se extrae el polvo obtenido con 50 ml de metanol usando la pipeta graduada apropiada y un frasco de laboratorio de 100 ml para mezclar y extracción. Se sigue el procedimiento indicado arriba.

250 MG DE QUININA CLOR-
HIDRATO POR ML DE FLUIDO

Se diluye 1 ml de la solución inyectable con 24 ml de metanol usando las pipetas graduadas apropiadas y un frasco de laboratorio de 25 ml para mezclar.

300 MG DE QUININA CLOR-
HIDRATO POR ML DE FLUIDO

Se diluye 1 ml de la solución inyectable con 29 ml de metanol usando las pipetas graduadas apropiadas y un frasco de laboratorio de 50 ml para para mezclar.

Todas las soluciones resultantes deberán contener 10 mg de quinina sulfato o 10 mg de quinina clorhidrato por ml, lo equivalente en cada caso a aprox. 8.3 mg de quinina como base libre y deben rotularse '*Solución madre de la muestra de quinina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido turbio sobrenadante o la dilución clara obtenida.

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 7 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución se rotula '*Solución de trabajo de la muestra de quinina*'.

La concentración esperada de quinina sulfato o clorhidrato en esta solución de trabajo es de 1.25 mg del agente activo por ml y debe corresponder a las concentraciones de sales de quinina apropiada de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Marque una línea de origen paralela a unos 1.5 cm del borde inferior de la placa cromatográfica y aplique 2 µl de cada solución de ensayo y del estándar como se muestra en la imagen de al lado, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

En una placa se pueden aplicar hasta cinco muestras. Comprobar la uniformidad de las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deberán tener forma circular y estar situadas equidistantes entre sí en la línea de origen. Aunque su intensidad puede diferir, su diámetro no. Mientras que la diferencia en la intensidad se debe a la diferente cantidad de los residuos de excipientes o la cantidad de agente activo contenidos en las tabletas o de las cápsulas, una diferencia de diámetro resulta de la aplicación incorrecta. Se debe repetir el paso, si no se logra una aplicación homogénea la primera vez.

Seque con cuidado las manchas. Para ello, sostenga la cromatoplaque con el par de pinzas suministradas en la corriente de aire caliente durante unos 30 segundos justo por encima de la plancha de calefacción.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Se pipetea 20 ml de metanol y 0.5 ml de solución de amoníaco al 25% al frasco usado como cuba cromatográfica. Se cierra el frasco y se agita bien. Se cubren las paredes del frasco con papel de filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar que el interior del frasco se sature con los vapores de solvente. Cuidadosamente se coloca la placa cromatográfica cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente haya alcanzado aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. El tiempo de proceso será de unos 20 minutos. Se retira la placa de la cuba, se marca la línea del frente del solvente y se permite la evaporación del excedente de solvente, colocando durante alrededor de un minuto la cromatoplaque directamente en la plancha de calefacción suministrada.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca el resto de la fase móvil y se observa la placa cromatográfica bajo luz ultravioleta de 254 nm usando la lámpara de pilas suministrada. Se utiliza este método tanto para el proceso de identificación como para la verificación cuantitativa. Para la verificación adicional de la identidad y la cantidad de quinina se observa la placa a) bajo luz ultravioleta de 366 nm en un cuarto oscuro y b) a la luz del día después del manchado con yodo. El manchado completo de yodo puede llevar hasta un minuto.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una intensa mancha azul a una distancia de recorrido de aprox. 0.59 indica la presencia de quinina en la solución de ensayo. Las manchas fuertes adicionales generadas por la solución de ensayo indican la presencia de otros agentes activos o la degradación de la quinina, esto

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de quinina

Recorrido No. 2:

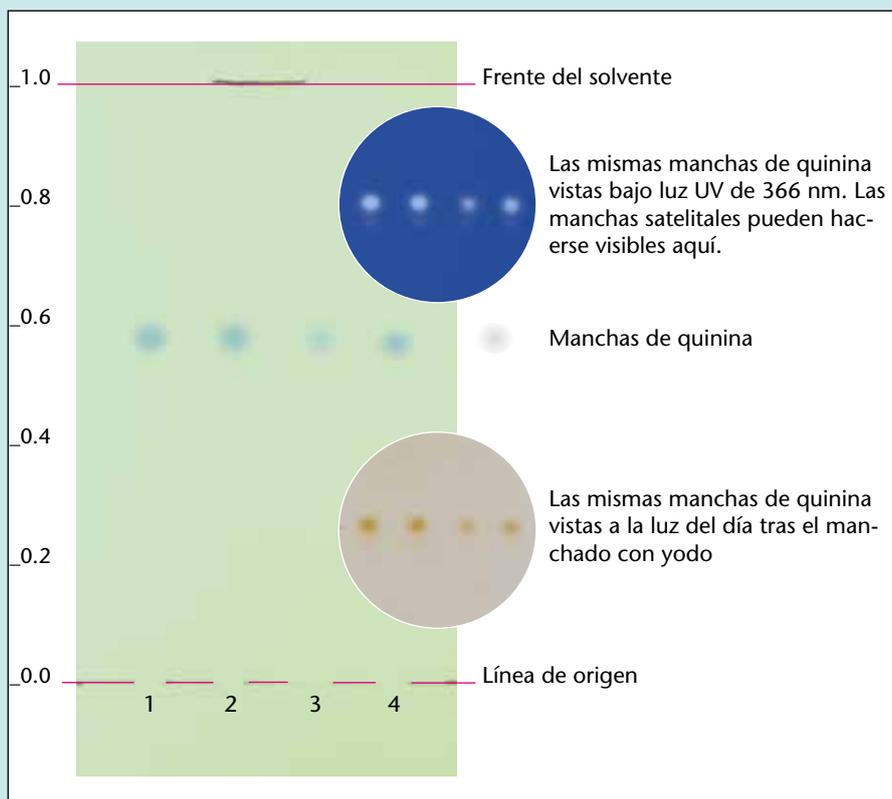
Fármaco de buena calidad con contenido aceptable de quinina

Recorrido No. 3:

Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en quinina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de quinina



último siendo más probable al ir asociados con una mancha principal más pequeña. Una mancha principal más pequeña de la solución de ensayo también puede indicar un bajo contenido de quinina y si no hay ninguna mancha, significa que existe una ausencia total de quinina. Los agentes auxiliares incorporados en los diferentes productos acabados pueden causar algunas manchas más débiles que se desplazan a lo largo del frente del disolvente o que emergen cerca o en la línea de origen.

XII. OBSERVACIONES HECHAS A 366 NM

Al exponer la cromatopla a luz ultravioleta de 366 nm en lugar oscuro, la fluorescencia azul observada para las manchas de quinina a 254 nm se convertirá ahora en una fluorescencia blanca intensa. Además, en condiciones ideales de detección, una mancha satelital menor que probablemente proceda de la dihidroquinina se hará ahora visible justo debajo de cada mancha de quinina. Esta última observación pondrá aún más de relieve la existencia de quinina en la solución de ensayo.

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

Al exponer la placa cromatográfica a los vapores de yodo, todas las manchas de quinina detectadas bajo la luz ultravioleta de 254 nm y 366 nm se irán tornando naranjamarrón ahora. Se continúa observando la placa conforme se vaya evaporando el yodo. Las manchas generadas por productos de baja calidad desaparecerán gradualmente primero, seguidas por las manchas de referencia con un contenido de quinina de 80% y 100%, respectivamente.

XIV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de quinina en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido al cromatograma obtenido con las soluciones estándar alta y baja. Este 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 es rechazado, si el contenido del agente activo no puede verificarse en el tercer ensayo. Para obtener una segunda opinión, 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. Para documentar el proceso, haga fotos de todos los resultados con una cámara digital desactivando primero el flash.

8 Lista de artículos de inventario del Minilab

La primera, segunda y tercera lista de artículos del inventario que aparecen a continuación reflejan el tipo y las cantidades de equipos, productos químicos y sustancias de referencia que se suministran cuando se pide un GPHF-Minilab™ ordinario. La cuarta lista muestra sustancias de referencia opcionales que se utilizarán únicamente para proyectos de expertos o en los que se apliquen preferencias regionales específicas en materia de tratamiento farmacológico, por ejemplo, sustancias de referencia antivirales y antirretrovirales para los programas de gripe aviar y VIH/SIDA. Las sustancias de referencia

opcionales incluyen también los artículos que son muy caros, que requieren un almacenamiento por debajo de la temperatura ambiente o que son difíciles de obtener. Los Minilabs también se pueden adaptar para satisfacer las necesidades específicas de los países donde la malaria y la tuberculosis son endémicas. El asociado logístico de Global Pharma Health Fund, Technologie Transfer Marburg, mantiene un stock de existencias adecuado listo para su envío a todo el mundo. En la TTM, la gestión de los pedidos se facilitará y los errores se evitados cuando se utilizan los números de catálogo que se

muestran en la tabla siguiente. No hay un volumen mínimo de pedido. Los datos de contacto para la adquisición de artículos de repuesto o juegos completos de Minilab son los siguientes:

Technologie Transfer Marburg
Industriestrasse 10
35091 Cölbe, Alemania
ttm@ttm-germany.de
Teléfono +49-6421-8737-30
Fax +49-6421-8737-37

1. Instrumentos de Laboratorio del GPHF-Minilab

Nº ref.	Artículo	Cant.
	Enseñanza, entrenamiento, guía	
AG040071	Minilab manual versión 2022 con ensayos CCF sobre 107 agentes activos	1
	Salud y Seguridad	
AG020046	Gafas de seguridad, incluida la protección contra la luz ultravioleta	1
	Ensayos físicos	
AG020045	Calibrador de vernier para medidas de hasta 190 mm	1
AG020025	Regla graduada de 20 cm	1
AG020057	Balanza electrónica de bolsillo, incl. manual de instrucciones, precisión 0.01 g, peso máx. 60 g	1
AG020101	Pesa de calibración, 50 g	1
AG020102	Maletín para pesas de calibración	1
	Ensayo de disgregación	
AG020021	Frasco de vidrio de laboratorio de 125 ml, con tapa	5
AG020049	Termómetro de alcohol en centígrados (0 - 100 C°)	1
AG020018	Cronómetro de alarma, 60 min.	1
	Preparación de las soluciones madre y de trabajo	
AG020008	Espátula, doble punta, acero inoxidable, longitud 210 mm	1
AG020038	Mano de mortero en porcelana, diámetro de la cabeza 36 mm, longitud 150 mm	1
AG020044	Tijeras, longitud 250 mm	1
AG020047	Cuchilla de corte	1
AG020001	Papel de aluminio de 30 µm de grosor, 45 x 1000 cm	1
AG020050	Embudo de polipropileno 65/9 mm	3
AG020020	Frasco de vidrio de laboratorio de 10 ml, con tapa (vial)	20
AG020022	Frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, con tapa	6
AG020024	Frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml, con tapa	15
***	Frasco de vidrio de laboratorio de 125 ml, con tapa (véase ensayo de disgregación arriba)	
AG020026	Pipeta graduada (0.01 ml) de 1 ml de capacidad	10
AG020028	Pipeta graduada (0.01 ml) de 2 ml de capacidad	5
AG020030	Pipeta graduada (0.1 ml) de 5 ml de capacidad	10
AG020027	Pipeta graduada (0.1 ml) de 10 ml de capacidad	10
AG020029	Pipeta graduada (0.1 ml) de 25 ml de capacidad	5
AG020037	Llenadora de pipetas / bombilla de succión con 3 válvulas	1
AG020041	Gradillas para tubos de ensayo, 40 tubos, desensamblado para transporte	1
AG020012	Papel indicador de pH de uso universal	1
	El cuadro continúa en la página siguiente	1

Nº ref.	Artículo	Cant.
	Etiquetado de los envases para las soluciones madre y de trabajo	
AG020009	Cinta adhesiva	1
AG020019	Rotulador negro, resistente al agua	2
	Aplicación de las soluciones de control y muestra	
AG020005	Lápiz de mina blanda	1
AG020006	Sacapuntas	1
***	Regla graduada de 20 cm (véase ensayos físicos arriba)	
AG020061	Microcapilares de vidrio para transferir un volumen de 2 µl, paquete de 10 x 100	1
AG020011	Plancha de calefacción (El hierro de viaje se usa al revés)	1
AG020054	Enchufe adaptador de uso universal para electrodomésticos	1
	Preparación de la fase móvil	
AG020033	Pipeta para transferencia/pipeta de gota de polipropileno de 3 ml, graduación 0.5 ml	10
***	Juego de pipetas graduadas (véase preparación de la solución madre y de trabajo arriba)	
	Placas cromatográficas	
AG020007	Placas Merck CCF de aluminio, pre-cubiertas con gel de sílice 60 F254, 5 x 10 cm, paquete de 50 unidades	8
	Desarrollo del cromatograma	
AG020023	Cámara/cuba cromatográfica (frasco de vidrio de laboratorio de 500 ml con tapa)	1
AG020043	Papel de filtro redondo, diámetro 150 mm, paquete de 100	3
***	Cronómetro de alarma (véase ensayo de disgregación arriba)	
	Detección de manchas de agentes activos en la placa cromatográfica	
AG020055	Lámpara de luz ultravioleta de 254 nm más un paquete de 4 pilas	1
AG020056	Lámpara de luz ultravioleta de 366 nm más un paquete de 4 pilas	1
AG020060	Pilas de repuesto para lámparas de luz ultravioleta, paquete de 4 pilas	2
***	Plancha de calefacción (véase aplicación de la solución de trabajo arriba)	
AG020059	Cámara de sumersión para CCF/vaso de 250 ml de polipropileno, apertura de 65 mm	1
AG020023	Cámara de manchado con yodo/frasco de laboratorio de 500 ml con tapa	1
AG020035	Pinzas de acero inoxidable, longitud 130 mm	1
AG020010	Varilla de vidrio para agitación, ø 5mm, longitud 200 mm	2
	Empaque del equipo	
G5020014	Maletín de transporte para cargas pesadas	1
AG020100	Juego de piezas internas para el maletín de transporte para cargas pesadas	1
G5020058	Candado con código numérico	2

2. Solventes y Químicos del GPHF-Minilab

Nº ref.	Artículo	Cant.
	Químicos con grado 'reactivo analítico comercial'	
AG010007	Acetato de etilo, 1000 ml	3
AG010001	Acetona, 1000 ml	4
AG010006	Ácido acético 96%, 1000 ml	2
AG010035	Ácido clorhídrico 32%, 1000 ml	1
AG010018	Ácido sulfúrico 96%, 1000 ml	1
AG010034	Amoníaco en solución al 25%, 1000 ml	1
AG010037	Butan-1-ol, 1000 ml (sustituible por isobutanol, pero los valores Rf correspondientes serán inferiores)	1
AG010013	Cloruro de magnesio hexahidrato, 250 g	1
AG010036	Cloruro de sodio, 500 g	1
AG010014	Metanol (alcohol metílico), 1000 ml	15
AG010039	Ninhidrina, 50g	1
AG010020	Tolueno, 1000 ml	1
AG010010	Yodo, 100 g	1

3. Sustancias de referencia del GPHF-Minilab (suministro regular)		
N° ref.	Artículo	Cant.
	Sustancias de referencia para medicamentos antibacterianos	
AG030092	Ácido clavulánico/amoxicilina de 125/500 mg - tubo de 10	1
AG030004	Amoxicilina de 500 mg - tubo de 20	1
AG030168	Ampicilina trihidratada - frasco de 5 g	1
AG030086	Azitromicina de 250 mg - tubo de 20	1
AG030113	Bencilpenicilina potásica - frasco de 25 g (para los tres: bencilpenicilina sódica/procaína/benzatina)	1
AG030182	Cefalexina de 500 mg - tubo de 20	1
AG030098	Cefazolina sódica - frasco de 5 g	1
AG030120	Cefixima de 400 mg - tubo de 10 (entrega pendiente)	
AG030134	Cefotaxima sódica - frasco de 5 g	1
AG030123	Cefpodoxima de 100 mg (como cefpodoxima proxetil) - tubo de 10	1
AG030099	Ceftriaxona (sal de disódica de ceftriaxona hemiheptahidratada) - frasco de 5 g	1
AG030066	Cefuroxima de 250 mg (como cefuroxima axetilo) - tubo de 10	1
AG030044	Ciprofloxacina de 250 mg (como clorhidrato) - tubo de 20	1
AG030091	Claritromicina de 250 mg - tubo de 20	1
AG030137	Clindamicina de 300 mg (como clorhidrato) - tubo de 20	1
AG030135	Cloranfenicol - frasco de 25 g	1
AG030138	Cloxacilina sódica monohidratada - frasco de 5 g	1
AG030112	Doxiciclina de 100 mg (como hclate) - tubo de 20	1
AG030174	Eritromicina de 250 mg (como estearato) - tubo de 20 (entrega pendiente)	
AG030155	Fenoximetilpenicilina de 590 mg / 1.000.000 UI (como potásica) - tubo de 20	1
AG130114	Gentamicina sulfato - frasco de 5 g	1
AG030067	Levofloxacino de 250 mg - tubo de 10	1
AG030026	Metronidazol de 250 mg - tubo de 20	1
AG030093	Ofloxacino de 200 mg - tubo de 10	1
AG030012	Sulfametoxazol/trimetoprima (cotrimoxazol) de 100/20 mg - tubo de 20	1
AG030176	Tetraciclina clorhidrato - frasco de 25 g	1
	Sustancias de referencia para medicamentos antipalúdicos	
AG030162	Amodiaquina diclorhidrato dihidrato - frasco de 5 g	1
AG030157	Artemetero - frasco de 5 g	1
AG030158	Artesunato - frasco de 5 g	1
AG030175	Atovuona/proguanil clorhidrato de 62.5/25 mg - tubo de 20	1
AG030171	Cloroquina difosfato - frasco de 25 g	1
AG030159	Dihidroartemisinina - frasco de 5 g	1
AG030160	Lumefantrina - frasco de 5 g	1
AG030087	Piperaquina tetrafosfato de 320 mg - tubo de 20 (entrega pendiente)	
AG030140	Pirimetamina de 25 mg - tubo de 20	1
AG030139	Primaquina difosfato - frasco de 5 g	1
**	Proguanil clorhidrato - utilizar atovuona/proguanil HCl 62.5/25 mg comprimidos co-formulados de arriba	
AG030172	Quinina sulfato (sal de hemisulfato de quinina monohidratada) - frasco de 5 g	1
AG030167	Sulfadoxina - frasco de 5 g	1
	Sustancias de referencia para medicamentos antimicobacterianos	
AG030096	Ácido paraaminosalicílico (PAS, ácido 4-amino-2-hidroxibenzoico) - frasco de 5 g	1
AG030088	Cicloserina de 250 mg - tubo de 10	1
AG030127	Dapsona de 50 mg - tubo de 20	1
AG030015	Etambutol clorhidrato de 400 mg - tubo de 20	1
	El cuadro continúa en la página siguiente	1

Nº ref.	Artículo - continuación de la página previa	Cant.
AG030089	Etionamida de 250 mg - tubo de 10	1
AG030097	Estreptomicina hemitrisulfato - frasco de 5 g	1
AG030020	Isoniazida de 100 mg - tubo de 20	1
AG030094	Kanamicina monosulfato - frasco de 5 g	1
AG030067	Levofloxacino de 250 mg - tubo de 10	1
AG030068	Moxifloxacino de 400 mg - tubo de 10	1
AG030093	Ofloxacino de 200 mg - tubo de 10	1
AG030033	Pirazinamida de 500 mg - tubo de 20	1
AG030070	Protionamida de 250 mg - tubo de 10	1
AG030035	Rifampicina de 150 mg - tubo de 20	1
	Sustancias de referencia para medicamentos antihelmínticos	
AG030166	Albendazol - frasco de 5 g	1
AG030023	Mebendazol de 100 mg - tubo de 20	1
AG030045	Prazicuantel de 600 mg - tubo de 20	1
	Sustancias de referencia para medicamentos antifúngicos	
AG030142	Fluconazol de 50 mg - tubo de 10	1
AG030165	Griseofulvina - frasco de 5 g	1
	Sustancias de referencia para medicamentos cardiovasculares	
AG030125	Amlodipino de 5 mg - tubo de 20	1
AG030109	Atenolol de 50 mg - tubo de 20	1
AG030110	Bisoprolol de 5 mg (como fumarato) - tubo de 40	1
AG030111	Captopril de 50 mg - tubo de 20	1
AG030016	Furosemida de 40 mg - tubo de 20	1
AG030107	Hidroclorotiazida de 25 mg - tubo de 20	1
AG030183	Irbesartán 150 mg - tubo de 20	1
AG030143	Lisinopril 10 mg - tubo de 20	1
AG030184	Losartán sal potásica 50 mg - tubo de 20	1
AG030185	Metildopa 125 mg - tubo de 20	1
AG030144	Nifedipina de 20 mg - tubo de 20	1
AG030145	Simvastatina de 20 mg - tubo de 20	1
AG030186	Telmisartán 20 mg - tubo de 20	1
AG030187	Valsartán 80 mg - tubo de 20	1
	Sustancias de referencia para medicamentos analgésicos	
AG030128	Ácido acetilsalicílico de 100 mg - tubo de 20	1
AG030154	Ácido mefenámico - frasco de 25 g	1
AG030131	Diclofenaco sódico de 25 mg - tubo de 20	1
AG030133	Naproxeno de 250 mg - tubo de 20	1
AG030029	Paracetamol de 500 mg - tubo de 20	1
	Sustancias de referencia para medicamentos antialérgicos y antiasmáticos	
AG030169	Aminofilina ester operada por teofilina - frasco de 25 g	1
AG030129	Cetirizina diclorhidrato de 10 mg - tubo de 20	1
AG030136	Clorfenamina maleato - frasco de 25 g	1
AG030178	Dexametasona 8 mg - tubo de 20	1
AG030031	Prednisolona de 5 mg - tubo de 100	1
AG030146	Salbutamol hemisulfato - frasco de 5 g	1
	Sustancias de referencia para medicamentos endocrinos	
AG030108	Clomifeno citrato de 50 mg - tubo de 20	1
AG030017	Glibenclamida de 5 mg - tubo de 40	1

AG030102	Metformina clorhidrato de 500 mg - tubo de 20	1
	Sustancias de referencia para medicamentos gastrointestinales	
AG030148	Metoclopramida clorhidrato de 10 mg - tubo de 20	1
AG030149	Omeprazol de 20 mg - tubo de 20	1
AG030173	Ranitidina clorhidrato - frasco de 5 g	1
4. Sustancias de referencia del GPHF-Minilab (suministro opcional)		
<i>N° ref.</i>	<i>Artículo</i>	<i>Cant.</i>
	Sustancias de referencia para medicamentos antibacterianos	
AG030126	Clorhexidina (como diacetato) - frasco de 5 g	
	Sustancias de referencia para medicamentos antipalúdicos	
AG030071	Halofantrina clorhidrato de 250 mg - tubo de 10 (suministro pendiente)	
AG030177	Mefloquina clorhidrato - frasco de 1 g	
AG030090	Pironaridina tetrafosfato/artesunato de 180/60 mg - tubo de 20 (suministro pendiente)	
AG030151	Sulfametoxipirazina - frasco de 5 g (suministro pendiente)	
	Sustancias de referencia para medicamentos antimicobacterianos	
AG030100	Amikacina disulfato - frasco de 5 g	
AG030101	Capreomicina disulfato - frasco de 5 g	
	Sustancias de referencia para medicamentos antihelmínticos	
AG030163	Prazicuantel - frasco de 5 g	
	Sustancias de referencia para medicamentos anti(rretro)virales	
AG030152	Aciclovir de 200 mg - tubo de 10	
AG030048	Didanosina de 200 mg - tubo de 10 (suministro pendiente)	
AG030116	Efavirenz de 50 mg - tubo de 10	
AG030161	Efavirenz de 600 mg - tubo de 10	
AG030053	Estavudina de 40 mg - tubo de 10	
AG030049	Indinavir de 200 mg - tubo de 10	
AG030050	Lamivudina de 150 mg - tubo de 10	
AG030051	Nevirapina de 200 mg - tubo de 10	
AG030041	Oseltamivir de 75 mg - tubo de 10	
AG030115	Ritonavir de 100 mg - tubo de 10	
AG030103	Zidovudina de 100 mg - tubo de 10	
	Sustancias de referencia para medicamentos antialérgicos y antiasmáticos	
AG030179	Dexametasona-21-fosfato 8 mg - solución de referencia en 10 ampollas de 2 ml a 4 mg de dexametasona-21-fosfato por ml	

- Detección de medicamentos falsificados y de calidad inferior en los países de ingresos bajos y medios
- Protección de los consumidores y de las cadenas de suministro de medicamentos
- Impulsar la capacidad de ensayo de medicamentos prioritarios
- Asistencia en el seguimiento de la calidad de los medicamentos después de su comercialización
- Complementar el trabajo de los laboratorios de control de medicamentos existentes

El GPHF-Minilab™
es un laboratorio en miniatura
único que viene con métodos de ensayo asequibles
para una detección rápida y fácil de medicamentos falsificados y de
calidad inferior como tecnología de nivel inicial para los entornos de salud con
recursos limitados en países de ingresos bajos y medios.

En más de veinte años de trabajo en proyectos, el GPHF-Minilab™ ha demostrado
su idoneidad en casi 100 países.

Una revisión completa de los métodos y operaciones generales del Minilab y sus protocolos de ensayo, extraídos de los manuales principales publicados en 1998, 2008 y 2020 y de sus numerosas ampliaciones, que se publican cada año.

Con los protocolos de ensayo de los principios activos farmacéuticos que suelen encontrarse en los medicamentos prioritarios para las enfermedades transmisibles y no transmisibles, este nuevo manual ofrece ahora procedimientos de ensayo para 107 principios activos que permiten comprobar la calidad de una amplia gama de medicamentos acabados de forma rápida, sencilla y económica.



Global Pharma Health Fund
www.gphf.org