

Manual

Para usuarios del GPHF-Minilab®

Suplemento 2010

Volumen II

ENSAYOS CON CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA



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



FROM THE AMERICAN PEOPLE



U.S. PHARMACOPEIA
DRUG QUALITY AND
INFORMATION PROGRAM

SUPLEMENTO 2010 AL VOLUMEN II DE ENSAYOS CON CROMATOGRFÍA EN CAPA FINA

Autores

Richard W. O. Jähne, Kornelia Dwornik, Volker Rubeau y Souly Phanouvong

* * *

Revisado por

Adrian Barojas, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Yanga Dijiba, Mustapha Hajjou y Patrick Lukulay

* * *

Publicado por

El Global Pharma Health Fund (GPHF), una iniciativa sin ánimo de lucro fundada y patrocinada por Merck Darmstadt · Alemania, y el programa de control de calidad e información de medicamentos de farmacoepa de los Estados Unidos de Norteamérica (United States Pharmacopeia Drug Quality and Information Program - USP DQI)

* * *

Copyright © de GPHF & USP DQI

* * *

Agradecimientos

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

* * *

Acerca del proyecto GPHF-Minilab®

La proliferación de medicamentos falsificados constituye una seria amenaza para la salud. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que una inquietante proporción de 10 a 30 por ciento de todos los medicamentos ofrecidos en los países subdesarrollados y en vía de desarrollo son falsificaciones o presentan deficiencias de calidad.

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

Desde hace 10 años, los minilaboratorios GPHF-Minilab han venido actuando como primera línea de defensa contra los medicamentos falsificados y de baja calidad que amenazan la salud de millones de habitantes de los países subdesarrollados y en vía de desarrollo. Hasta la fecha un total de más de 350 minilaboratorios han sido suministrados a instituciones en 70 países de África, Asia y Latinoamérica.

Los socios más importantes para la implementación del minilaboratorio son los servicios nacionales de salud y las agencias nacionales de medicamentos junto con la Organización Mundial de la Salud y el programa de ayuda técnica de farmacoepa de los Estados Unidos de Norteamérica (U.S. Pharmacopeia Drug Quality and Information Program). Recientemente, los programas conjuntos de control de calidad de medicamentos llevados a cabo en el sureste de Asia y el éste de África dispararon la confiscación por parte de Interpol de millones de pastillas falsificadas sin contenido alguno de medicamentos efectivos para el tratamiento de la malaria.

La necesidad de los países de bajos ingresos de disponer de un sistema de control de calidad para medicamentos económico y sin sofisticaciones innecesarias persiste y es el motor que impulsa en la actualidad el desarrollo de nuevos protocolos de ensayo para el GPHF-Minilab®. La necesidad de aumentar el volumen de ensayos es también el punto de partida para la intensificación de la colaboración con nuestros socios de los Estados Unidos. Cualquier entidad interesada en mejorar la salud de los países subdesarrollados y en vía de desarrollo está invitada a formar parte de la iniciativa.

* * *

Diseño e impresión: Grimm Grafik Design

	Página
Nuevos Procedimientos Individuales de Ensayo con Cromatografía.....	4
<i>Suplemento 2010 al Volumen II, Capítulo 6</i>	
<i>Más Medicamentos Antipalúdicos, Antibacteriales, Antituberculosos y Antihelmínticos</i>	
6.42 Albendazol	4
6.43 Atovacuona (incl. formulaciones con proguanil)	8
6.44 Cefixima	12
6.45 Cefuroxima axetilo	16
6.46 Halofantrina	20
6.47 Levofloxacino	24
6.48 Moxifloxacino	28
6.49 Proguanil	32
6.50 Protionamida	36
Cuadro de Resumen de Procedimientos de Ensayo con Cromatografía	40
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 7</i>	
Listado Actualizado de Estándares de Referencia para el GPHF-Minilab®	41
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 10</i>	
Salud & Seguridad	43

6.50 Protionamida

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

I. INSPECCIÓN VISUAL & FÍSICA

Buscar las deficiencias en el etiquetado, el envase y en las formas farmacéuticas, tal y como se describe en los capítulos sobre métodos y operaciones generales en el manual principal. Usar el formulario de reporte como guía para anotar cualquier particularidad del producto. Cada una de las tabletas o cápsulas contiene por lo regular 250 mg de protionamida.

II. ENSAYO DE DISGREGACIÓN

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

III. RESULTADOS & MEDIDAS A TOMAR

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

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

I. PRINCIPIO

Protionamida se extrae de tabletas y cápsulas con metanol y se determina con cromatografía en capa fina (CCF) con referencia a un estándar secundario.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- 1) Pistilo
- 2) Papel aluminio
- 3) Embudo
- 4) Cinta adhesiva
- 5) Rotulador
- 6) Lápiz
- 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 F 254, tamaño 5x10 cm
- 11) Microcapilares de vidrio (2- μ l de capacidad)
- 12) Cámara de revelado para CCF (frasco de 500 ml)
- 13) Plancha caliente
- 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) Estándar secundario de referencia, por ejemplo, tabletas de 250 mg de protionamida

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como referencia, por ejemplo, tabletas con contenido de 250 mg de protionamida. Se envuelve la tableta usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando el pistilo. Se desocupa cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 40 ml y se enjuagan todos los residuos sólidos con 25 ml de metanol utilizando una pipeta graduada. Se cierra el frasco y se agita por unos tres minutos, hasta que se haya disuelto la mayor parte de los sólidos. Se deja reposar la solución por unos cinco minutos más, para que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante. La solución obtenida debe contener 10 mg del agente activo puro por ml y se rotula 'Solución madre del estándar de protionamida'. 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 añaden 3 ml de metanol. Se tapa y agita el vial. La solución obtenida debe contener 2.5 mg del agente activo puro por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de protionamida al 100%'.

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

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 el vial. La solución obtenida debe contener 2 mg del agente activo puro por ml y se rotula 'Solución estándar de trabajo de protionamida al 80%'.

Ésta solución estándar representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de protionamida de solo 80% de lo indicado en la etiqueta. En la investigación actual, éste nivel de contenido de fármaco representa el límite de concentración inferior aceptable de un determinado producto.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 250 MG DE PROTIONAMIDA POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa del producto farmacológico de las muestras recogidas 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 trasfiere la totalidad del polvo obtenido a un frasco de laboratorio de 40 ml. El polvo contenido en cápsulas debe vaciarse directamente en el frasco, añadiendo después las dos partes que conforman la cápsula. Para la extracción, se agregan 25 ml de metanol utilizando una pipeta graduada, se cierra el frasco y se agita durante unos tres minutos hasta que se haya disuelto la mayor parte de los sólidos. Se deja reposar la solución por unos cinco minutos adicionales para que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

Todas las soluciones madre producidas deberán contener finalmente 10 mg de agente activo puro por ml y rotularse 'Solución madre de la muestra de protionamida'. 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 añaden 3 ml de metanol. Se cierra, agita y rotula el vial como '*Solución de trabajo de la muestra de protionamida*'.

La concentración de protionamida que se espera obtener de esta solución de trabajo de la muestra es de 2.5 mg por ml y deberá corresponder a la concentración de protionamida de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba.

VIII. APLICACIÓN DE LOS PUNTOS

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

Hasta cinco puntos se pueden aplicar sobre una placa. Compruébese la uniformidad de los puntos utilizando luz ultravioleta de 254 nm. Todos los puntos deberán tener forma circular y ser aplicados equidistantes sobre la línea de origen. Aunque las intensidades puedan diferir, los diámetros nunca deben hacerlo. Las diferencias de intensidad se deben a la cantidad de excipientes residuales contenidos en las tabletas o cápsulas 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 los puntos sea homogéneo.

IX. REVELADO DE LA PLACA CROMATOGRÁFICA

Se pipetea 18 ml de acetato de etilo y 2 ml de metanol al frasco a utilizarse como cámara de revelado. Se tapa la cámara y se mezcla muy bien. Se recubre la pared de la cámara con papel filtro y se espera por unos 15 minutos para asegurar la saturación de la cámara con el vapor del solvente. Cuidadosamente se coloca la placa CCF cargada en el frasco. Se cierra el frasco y se revela la placa cromatográfica hasta que el frente del solvente haya cubierto aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo requerido para el revelado de unos 10 minutos. Retire la placa de la cámara, marque el frente del solvente y permita la evaporación del excedente de solvente utilizando una plancha caliente de ser necesario.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca todo el solvente residual y se observa la placa cromatográfica bajo luz ultravioleta de 254 nm, utilizando la lámpara de pilas suministrada. Se utiliza este método tanto para la identificación como para la verificación cuantitativa. Verificación adicional de la identidad y la cantidad del agente activo obtiene observando la placa a la luz del día tras el manchado con yodo.

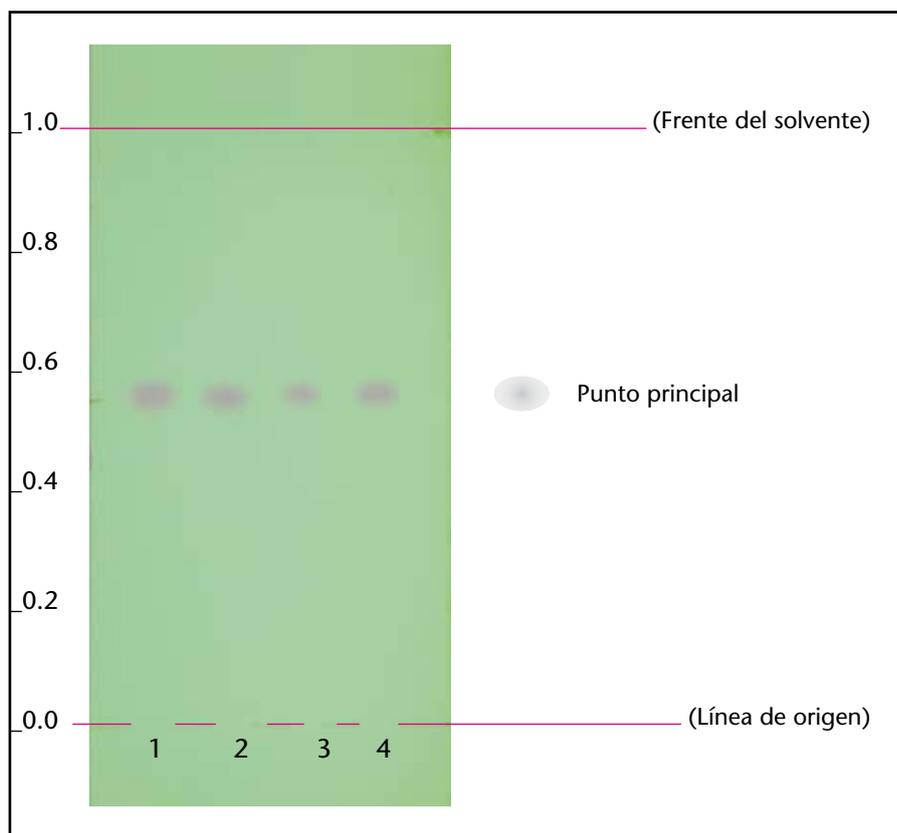
XI. PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

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

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

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

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



XII. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Un punto gris-violáceo a una distancia de recorrido de aprox. 0.52 indica la presencia de protonamida en la solución de ensayo. La aparición de puntos intensos adicionales generados por la solución de ensayo podrían indicar la presencia de otros agentes activos o deberse a una degradación de la protonamida, siendo éste último caso el más probable si van asociados a un punto principal de menor tamaño. Los agentes auxiliares incorporados a las diferentes formulaciones de las tabletas o cápsulas pueden generar algunos puntos más pálidos que emergerán cerca o sobre la línea de origen.

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

Cuando se expone la placa cromatográfica al vapor de yodo, todos los puntos conteniendo protonamida observados anteriormente bajo la luz ultravioleta a 254 nm se irán tornando amarillo-marrón. Se continúa observando la placa conforme se vaya evaporando el yodo. Los puntos generados por productos de baja calidad desaparecerán gradualmente primero, seguidos por los puntos del fármaco de referencia con un contenido de agente activo de 80% y 100%, respectivamente.

XIV. RESULTADOS & MEDIDAS A TOMAR

El punto de protonamida en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo debe corresponder en términos de color, tamaño, intensidad, forma y distancia de recorrido al obtenido en el cromatograma de las soluciones estándar alta y baja. Éste resultado debe obtenerse con cada método de detección. Si ese no es el caso, se debe repetir el ensayo desde el principio con una segunda muestra. El lote se rechaza, si el contenido de fármaco no puede verificarse al tercer ensayo. Para la 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.

Auténtico o falsificado?



Luchando contra los medicamentos falsificados · Protegiendo la vida humana

Global Pharma Health Fund
Otto-Meißner-Straße 1
60314 Frankfurt, Alemania
Tel.: 0049-69-962387-600
Fax: 0049-69-962387-609
info@gphf.org · www.gphf.org



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

**U.S. Agency for
International Development**
Office of Health, Infectious Diseases
and Nutrition, Ronald Reagan Bldg.,
1300 Pennsylvania Avenue NW
Washington, DC 20523-3700, USA
Tel.: 001-202-712-4789
Fax: 001-202-216-3702
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov



United States Pharmacopeia
Drug Quality and
Information Program
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790, USA
Tel.: 001-301-816-8162
Fax: 001-301-816-8374
uspdqi@usp.org · www.uspdqi.org

