

Manual

del GPHF-Minilab®

**Extensión 2002
Diez Nuevas Drogas**

Segundo Suplemento del Volúmen II Cromatografía de Capa Fina



Prólogo

1	Procedimientos de las Operaciones Estándares Individuales 5 <i>Suplemento del Volúmen II, Capítulo 7</i>	
7.21	Artesunato 6	
7.22	Cefalexina 10	
7.23	Ciprofloxacina 14	
7.24	Etambutol - incl. Combinaciones fijas con rifampicina, isoniazida y pirazinamida 18	
7.25	Glibenclamida 22	
7.26	Griseofulvina 26	
7.27	Mefloquina 30	
7.28	Pirazinamida - incl. Combinaciones fijas con rifampicina, isoniazida y etambutol 34	
7.29	Quinina - incl. las dosificaciones parenterales y orales y sales más conocidas 38	
7.30	Salbutamol 42	
2	Resumen de las condiciones para el trabajo con cromatografía 46 <i>Suplemento del Volúmen II, Capítulo 8</i>	
3	La Lista de revisión para el inventario del Minilab 47 <i>Suplemento del Volúmen II, Capítulo 10</i>	
4	Salud y Seguridad 50	

7.21 Artesunato

Identificación Primaria a Través de la Inspección Visual y la Prueba de Disgregación

I. INSPECCIÓN VISUAL

Busque las deficiencias en el etiquetado, en el empaque y en las formas farmacéuticas tal como se describe en los capítulos sobre métodos y operaciones generales en el manual principal. Use el formulario de reporte como una guía para anotar cualquier particularidad del producto. Cada tableta o cápsula contiene por lo regular 50 o 200 mgr. de artesunato.

II. PRUEBA DE DISGREGACIÓN

Todas las tabletas o cápsulas de artesunato de liberación rápida tienen que pasar la prueba de disgregación tal como se describe en los capítulos sobre métodos y operaciones del manual principal. Se deberán disgregar en agua a 37°C en menos de 30 minutos. Si el producto no pasa la prueba, es un signo de deficiencia.

III. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

Los productos medicinales provenientes de fuentes dudosas, o productos en los cuales faltan los documentos acompañantes o no son los correctos, así como los productos medicinales con defectos en su forma farmacéutica, defectos en el empaque, o las etiquetas están incompletas dañadas o hacen falta, o con las etiquetas escritas en otros idiomas, deberán ser sometidos a una prueba de identidad.

Verificación de la Identidad por Medio de la Cromatografía de Capa Fina

I. PRINCIPIO

El artesunato es extraído de las tabletas y las cápsulas con metanol y determinado por medio de CCF usando un estándar secundario auténtico como referencia.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- 1) Pistilo o mano de mortero
- 2) Papel aluminio
- 3) Frasco de laboratorio de vidrio con una capacidad de 25 a 100 ml.
- 4) Embudo
- 5) Un juego de pipetas (1 a 25 ml)
- 6) Viales de 10 ml
- 7) Cinta adhesiva
- 8) Marcador
- 9) Lápiz
- 10) Placa cromatográfica de Merck recubierta con gel de sílice 60 F 254, tamaño 5 x 10 cm
- 11) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad
- 12) Hornilla eléctrica
- 13) Cámara de desarrollo para cromatografía de capa fina (frasco)
- 14) Papel filtro
- 15) Tijeras
- 16) Pinzas
- 17) Luz ultravioleta de 254nm
- 18) Cámara de Yodo
- 19) Caja Petri
- 20) Metanol
- 21) Acido sulfúrico de 96%
- 22) Acido acético glacial
- 23) Etilacetato
- 24) Acetona
- 25) Tableta de referencia de 50 mgr. de artesunato

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

Para la preparación de la solución madre del estándar se requiere de una tableta de referencia de artesunato de 50mg, la que se triturará antes de realizar la extracción. El procedimiento será el siguiente: envuelva una tableta en papel aluminio y tritúrela con la mano del mortero hasta obtener un polvo fino. Vacíe el papel aluminio en un frasco de laboratorio de 25 ml y enjuague todos los residuos sólidos con 10 ml de metanol usando las pipetas graduadas. Cierre el frasco y agítelo por tres minutos hasta que se haya disuelto el sólido. Deje que repose la solución por 5 minutos hasta que los residuos insolubles se sedimenten debajo del líquido turbio sobrenadante. La solución madre va a contener 5 mgr.de la droga por ml y será etiquetada como *Solución madre del estándar de artesunato*. Para cada prueba se preparará una nueva solución.

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

No se necesitará diluir la solución madre del estándar. Esta contiene 5mgr por ml. del total de la droga y representa la concentración final de nuestra solución de trabajo.

La solución de trabajo estándar representa a un producto de buena calidad que contiene cien por ciento de artesunato.

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

Pipeteé 4 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añada 1 ml de metanol. Cierre el vial y agítelo. Esta solución va a contener 4 mgr de droga por ml y se la identificará como *Solución estándar de trabajo de artesunato al 80%*.

La solución estándar de trabajo de baja concentración representa a un producto de baja calidad que contiene 80% de artesunato. En nuestro trabajo esta concentración de la droga representa el límite inferior aceptable para un producto.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA, CUYO PRODUCTO DECLARA UNA CONCENTRACIÓN DE 50 MGR. DE ARTESUNATO POR UNIDAD

Para la preparación de la solución madre de la muestra se requiere una tableta o cápsula del producto apropiado que se encuentre en el mercado. El artesunato es extraído completamente usando el mismo procedimiento empleado para los estándares de referencia. Envuelva la tableta en papel aluminio y tritúrela con la mano del mortero hasta obtener un polvo fino. El polvo se transfiere cuantitativamente en un frasco de laboratorio de 25 ml. En el caso de cápsulas, ésta se abrirá y se vaciará en un frasco de laboratorio, luego se colocará las tapas vacías de la cápsula en el frasco. Añada 10 ml de metanol usando las pipetas, agíte el frasco por 3 minutos hasta que una gran parte del sólido se haya disuelto. Deje que repose la solución por 5 minutos hasta que los residuos insolubles se sedimenten debajo del líquido turbio del sobrenadante.

200 MGR. DE ARTESUNATO POR UNIDAD

Transfiera el polvo obtenido en un frasco de laboratorio de 50 ml y añada 40ml de metanol usando las pipetas. Cierre el frasco y agítelo por tres minutos hasta que se haya disuelto el sólido. Deje que repose la solución por 5 minutos hasta que los residuos insolubles se sedimenten debajo del líquido turbio del sobrenadante.

Ambas soluciones van a contener 5 mgr. de la droga/ml y serán identificadas como *Solución madre de la muestra de artesunato*. Para cada prueba se preparará una nueva solución.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

En ambos casos no se necesitará diluir la solución madre de la muestra. Esta contiene 5 mgr. por ml. del total de la droga y representa la concentración final de nuestra solución de trabajo.

VIII. APLICACIÓN DE LA PRUEBA

Marque una línea paralela (línea de inicio) a una distancia de 1.5 cm del extremo inferior de la placa. Aplique 2 microlitros (μ l) de la solución de la prueba y del estándar sobre la placa con las pipetas microcapilares como se demuestra en la fotografía de la página siguiente.

Hasta cinco manchas se podrán aplicar sobre la placa. Compruebe la uniformidad de las manchas usando una luz UV de 254 nm. A pesar de que el principio activo no es visible frente a la luz ultravioleta los residuos de los excipientes de la cápsula o de la matriz de la tableta lo van a ser. Todas las manchas deben ser circulares y estar localizadas a distancias iguales sobre la línea de origen. La intensidad de ellas puede diferir pero sus diámetros no deben ser diferentes. La diferencia en la intensidad se debe a la diferente cantidad de los excipientes de las tabletas o las cápsulas o a la diferente concentración de la droga en la solución de muestra. Una diferencia en el tamaño de la mancha es evidencia de una mala aplicación. Si no se logra una aplicación homogénea, repita de nuevo el procedimiento.

IX. DESARROLLO

Pipeteé en la cámara de desarrollo 18 ml de etilacetato, 4 ml de acetona y exactamente 0.1ml de ácido acético glacial. Cierre el recipiente y mezcle cuidadosamente. Cubra las paredes del recipiente con papel filtro y espere 15 minutos para asegurar la saturación con los vapores del solvente. Coloque con cuidado la placa en la cámara y desarrolle la placa cromatográfica hasta que el solvente haya alcanzado las tres cuartas partes de la longitud de la placa. El tiempo necesario de desarrollo es de aproximadamente 15 minutos. Remueva la placa de la cámara, marque el frente del solvente. Si es necesario utilice la hornilla eléctrica para evaporar el resto del solvente.

X. DETECCIÓN

Seque la placa de los residuos de solvente y expóngala a una solución metanólica de ácido sulfúrico al 5%. Para esto, mezcle 19 ml de metanol con 1 ml de ácido sulfúrico al 96% en la caja petri. Remueva la placa de la solución y seque el reverso de la placa con un papel tisú. Continúe secando la placa con la hornilla eléctrica y observe como las manchas principales van apareciendo gradualmente a la luz del día. No tome más de 15 segundos entre el humedecer y secar. Utilice este método de detección para la cuantificación.

Como alternativa, seque los residuos de solvente y exponga la placa a los vapores de yodo por alrededor de 1 minuto. Observe el cromatoplateo a la luz del día durante y después de la coloración con el yodo. Nota: Las manchas principales se podrán ver solo si la cámara de yodo ha sido activada adecuadamente.

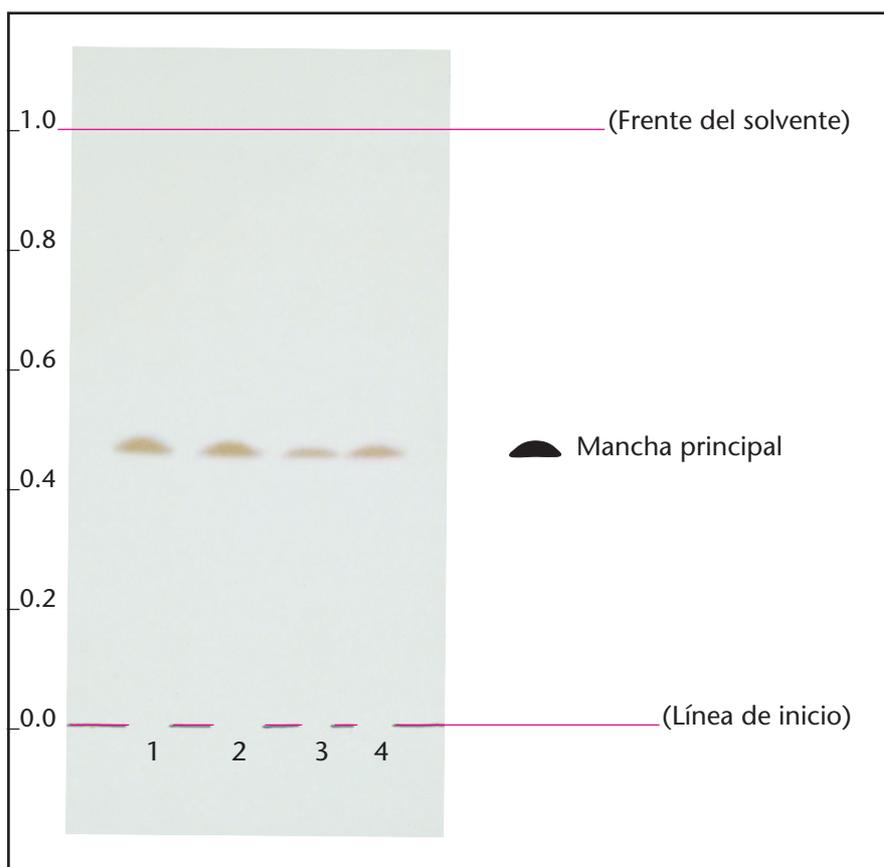
XI. PLACA CROMATOGRÁFICA OBSERVADA LUEGO DE LA EXPOSICIÓN CON ÁCIDO SULFÚRICO

Corrida Nr. 1:
Límite superior para el artesunato representa el 100% del total de la droga.

Corrida Nr. 2:
Un producto de alta calidad.

Corrida Nr. 3:
Un producto de baja calidad.

Corrida Nr. 4:
Límite inferior para el artesunato representa el 80% del total de la droga.



XII. OBSERVACIONES HECHAS A LA LUZ DEL DÍA LUEGO DE LA COLORACIÓN CON ÁCIDO SULFÚRICO

La presencia de artesunato se reconoce por una mancha fuerte y oscura a una distancia recorrida de 0.45. Otras manchas fuertes adicionales producidas por la solución de prueba indican una degradación de la droga especialmente si la mancha principal es pequeña. Muchas manchas débiles podrían aparecer en la línea de origen o cerca a ella y normalmente se debe a la presencia de los agentes auxiliares incorporados en la formulación de las tabletas o las cápsulas.

XIII. OBSERVACIONES HECHAS A LA LUZ DEL DÍA LUEGO DE LA COLORACIÓN CON YODO

Cuando se expone la placa a los vapores de yodo aparecerán una serie de manchas cafés junto con las manchas anteriormente observadas a la exposición con el ácido sulfúrico. Este es un método alternativo para cuantificar la presencia del artesunato.

XIV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha principal obtenida en el cromatograma con la solución prueba debe corresponder tanto en color, tamaño, forma, intensidad y distancia corrida con el del cromatograma obtenido con las soluciones estándares alta y baja. Este resultado deberá ser obtenido con todos los métodos de detección. Si no se obtienen resultados satisfactorios, se deberá repetir la corrida con una segunda muestra. Si luego de la tercera corrida no se ha podido verificar el contenido de la droga se deberá rechazar el lote. Envíe las muestras a un laboratorio de control de calidad de drogas para una segunda opinión. Retenga el lote y manténgalo en cuarentena hasta que se haya tomado una decisión sobre el rechazo o aceptación del producto.