

Manual

Para usuarios del GPHF-Minilab®

Suplemento 2013

Volumen II

ENSAYOS CON CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA



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



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

SUPLEMENTO 2013 AL VOLUMEN II DE ENSAYOS CON CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Autores

Richard W. O. Jähnke, Kornelia Dwornik, Kai Fischer y Souly Phanouvong

* * *

Revisado por

Adrian Bajoras, Daniel Bempong, Sanford Bradby, Kennedy Chibwe, Yanga Dijiba, Latifa El Hadri, Mustapha Hajjou, Lukas Roth 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 Promoción de la Calidad de Medicamentos de Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (U.S. Pharmacopeia's Promoting the Quality of Medicines programme - USP PQM)

* * *

Copyright © de GPHF & USP PQM

* * *

Agradecimientos

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

* * *

Acerca del proyecto GPHF-Minilab®

La proliferación de medicamentos falsificados constituye una seria amenaza para la salud. La Organización Internacional de Policía Criminal (Interpol) estima que una inquietante proporción de 10 a 30 por ciento de todos los medicamentos ofrecidos en los países subdesarrollados y en vía de desarrollo son falsificaciones o presentan deficiencias de calidad. Combatir dichas falsificaciones, asegura que las décadas de trabajo y medios invertidos en el sector de la salud no se pierdan a causa de control y vigilancia insuficientes.

Para evitar que las organizaciones responsables del aprovisionamiento de los medicamentos y los programas prioritarios para el combate de enfermedades como la malaria, la tuberculosis y el VIH/SIDA en países endémicos sean infiltrados con fármacos falsificados o de baja calidad, el Global Pharma Health Fund (GPHF), una organización caritativa fundada y patrocinada exclusivamente por Merck 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 minilaboratorio para la rápida verificación de la calidad y detección de medicamentos falsificados.

Desde hace largo tiempo, los minilaboratorios GPHF-Minilab® han venido actuando como primera línea de defensa contra los medicamentos falsificados y de baja norma, que amenazan la salud de millones de habitantes de los países subdesarrollados y en vía de desarrollo. Hasta la fecha un total de más de 570 minilaboratorios han sido suministrados en más de 80 países de África, la región del Pacífico, 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 Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (U.S. Pharmacopeia's Promoting the Quality of Medicines Program - USP PQM). Recientemente, los programas conjuntos de control de calidad de medicamentos llevados a cabo en el sureste de Asia y el éste de África dispararon la confiscación por parte de Interpol de millones de pastillas falsificadas sin contenido alguno de agentes activos para el tratamiento de la malaria.

La necesidad de los países de bajos ingresos de disponer de un sistema de control de calidad para medicamentos económico y sin sofisticaciones innecesarias persiste y es el motor que impulsa en la actualidad el desarrollo de nuevos protocolos de ensayo para el GPHF-Minilab®. La necesidad de aumentar el volumen de ensayos es también el punto de partida para la intensificación de la colaboración con nuestros socios de los Estados Unidos. Todas las entidades y organizaciones de asistencia internacionales interesadas en mejorar la seguridad y la salud de los pacientes en los países en vía de desarrollo están invitadas a formar parte de la iniciativa.

* * *

Diseño e impresión: Grimm Grafik Design, Ochsenfurt, Alemania

Capítulo	Página
Nuevos Procedimientos Individuales de Ensayo con Cromatografía	4
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 6</i>	
<i>Medicamentos Antipalúdicos, Antituberculosos y Antibacteriales</i>	
6.65 Amoxicilina (trihidrato, incl. formulaciones combinadas con clavulanato de potasio)	4
6.66 Artemetero (en tabletas clásicas o dispersables y polvo para suspensiones de lumefantrina)	8
6.67 Ciprofloxacino (clorhidrato y base libre, incl. formulaciones de liberación prolongada)	12
6.68 Claritromicina (como agente activo único en forma de tabletas y cápsulas)	16
6.69 Clavulanato de potasio (en formulaciones combinadas con amoxicilina)	20
6.70 Kanamicina (monosulfato en polvo para inyecciones)	24
6.71 Lumefantrina (en tabletas clásicas o dispersables y polvo para suspensiones de artemetero)	28
6.72 Ofloxacino (como agente activo único en forma de tabletas y cápsulas)	32
Cuadro de Resumen de Procedimientos de Ensayo con Cromatografía	36
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 7</i>	
Listado Actualizado de Estándares de Referencia para el GPHF-Minilab®	37
<i>Suplemento al Volumen II, Capítulo 10</i>	
Salud & Seguridad	39

6.71 Lumefantrina (en tabletas clásicas o dispersables y polvo para suspensiones de artemetero)

Identificación primaria por medio de la inspección visual y la prueba de disgregación

I. INSPECCIÓN FÍSICA

Buscar las deficiencias en el etiquetado, en el envase y en las formas farmacéuticas como se describe en los capítulos anteriores de métodos y operaciones generales. Usar el formulario de reporte como guía para anotar cualquier particularidad del producto. Cada comprimido clásico o dispersable contiene por lo regular 120 mg de lumefantrina, combinada con 20 mg de artemetero. Frecuentemente se encuentran formulaciones combinadas en forma de polvo para elaborar suspensiones de administración oral con contenido de 1080 mg ó 2160 mg de lumefantrina, y 180 mg ó 360 mg de artemetero, respectivamente. Independientemente de la concentración de agentes activos en el polvo, cada 5 ml de suspensión preparada deberán contener finalmente 90 mg de lumefantrina y 15 mg de artemetero.

II. ENSAYO DE DISGREGACIÓN

El ensayo de disgregación no es aplicable a los medicamentos combinados de dosis fijas que vienen suministrados en forma de polvo para la preparación de suspensiones de administración oral. Sin embargo, todas las tabletas o cápsulas de formulaciones combinadas de lumefantrina/artemetero de liberación rápida tienen que pasar el ensayo de disgregación tal como esta descrito en los capítulos sobre métodos y operaciones. Deberán disgregarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si el producto no pasa ésta prueba, esto constituye un signo de deficiencia importante.

III. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

Los productos farmacéuticos provenientes de fuentes dudosas o en los cuales los documentos acompañantes faltan o no son los correctos, así como los productos farmacéuticos 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 una prueba de cromatografía en capa fina.

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

I. PRINCIPIO

La lumefantrina se extrae de comprimidos clásicos o dispersables y de jarabes secos combinados con artemetero con una solución metanólica de ácido acético y se determina con cromatografía en capa fina (CCF) con referencia a un estándar secundario. Para la rápida verificación de la calidad del contenido de artemetero se consulta el protocolo apropiado descrito en el presente suplemento.

II. EQUIPO Y REACTIVOS

- 1) Pistilo
- 2) Papel aluminio
- 3) Embudo
- 4) Cinta adhesiva
- 5) Rotulador
- 6) Lápiz y regla
- 7) Viales de 10 ml
- 8) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml)
- 9) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml)
- 10) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F₂₅₄, de 5 x 10 cm
- 11) Microcapilares de vidrio (2-µl de capacidad)
- 12) Cámara de revelado CCF (frasco de 500 ml)
- 13) Plancha
- 14) Papel de filtro
- 15) Tijeras
- 16) Pinza
- 17) Luz ultravioleta de 254 nm
- 18) Cámara de yodo
- 19) Acetato de etilo
- 20) Ácido acético puro
- 21) Metanol
- 22) Estándar secundario de referencia, p. ej. tabletas de 120 mg de lumefantrina combinadas con 20 mg de artemetero

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 120 mg de lumefantrina, combinada con 20 mg de artemetero. 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 100 ml y se enjuagan todos los residuos con 45 ml de metanol y 5 ml de ácido acético puro usando las pipetas graduadas adecuadas. 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. Además de la artemetero, la solución obtenida debe contener un total de 2.4 mg de lumefantrina por ml y se rotula '*Solución madre del estándar de lumefantrina*'. La solución se prepara fresca para cada ensayo. Se continúa el trabajo con el líquido claro o turbio sobrenadante.

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

Se pipetea 1 ml de la solución madre del estándar a un vial de 10 ml y se añaden 2 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida debe contener un total de 0.8 mg de lumefantrina por ml y se debe rotular '*Solución estándar de trabajo de lumefantrina al 100%*'.

Esta solución estándar representa un producto farmacológico de buena calidad con contenido de lumefantrina de 100%.

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

Se pipetea 4 ml de la solución madre del estándar a un vial de 25 ml y se añaden 11 ml de metanol. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida debe contener un total de 0.64 de lumefantrina por ml y se debe rotular '*Solución estándar de trabajo de lumefantrina al 80%*'.

Esta solución estándar representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de lumefantrina 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 un determinado producto.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA DE UNA TABLETA QUE DICE CONTENER 120 MG DE LUMEFANTRINA POR UNIDAD

Se toma una tableta o cápsula completa de las muestras recogidas 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. Para la extracción se añaden 5 ml de metanol, seguidos de 0.55 ml de ácido acético puro 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.

POLVO PARA SUSPENSIONES QUE DICE CONTENER 1080 MG DE LUMEFANTRINA POR FRASCO

Se toma un frasco completo del producto farmacológico de las muestras recogidas durante el trabajo de campo. Para la extracción de la lumefantrina se añaden al envase original que contiene el polvo 45 ml de metanol, seguidos de 5 ml de ácido acético puro utilizando las pipetas graduadas adecuadas. Se cierra el frasco y agita por unos tres minutos. 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.

POLVO PARA SUSPENSIONES QUE DICE CONTENER 2160 MG DE LUMEFANTRINA POR FRASCO

Se toma un frasco completo del producto farmacológico de las muestras y se añaden al envase original que contiene el polvo 90 ml de metanol, seguidos de 10 ml de ácido acético puro utilizando las pipetas graduadas adecuadas. Se cierra el frasco y agita por unos tres minutos. 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.

Además del artemetero, todas las soluciones madre producidas deberán contener finalmente un total de 21.6 mg de lumefantrina por ml y rotularse '*Solución madre de la muestra de lumefantrina*'. 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 40 ml y se añaden 23.5 ml de metanol, seguidos de 2.5 ml de ácido acético puro. Se tapa y agita bien el vial. La solución obtenida se rotula '*Solución de trabajo de la muestra de lumefantrina*'.

La concentración esperada de lumefantrina en esta solución de trabajo es de 0.8 mg por ml y debe corresponder a la concentración 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 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, 4 de ml metanol y 2 ml de ácido acético puro al frasco usado como cámara de revelado CCF. 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. Se cierra el frasco y se revela la placa hasta que el frente del solvente haya impregnado unas tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de revelado de unos 10 minutos. Se retira la placa del frasco, se marca la línea del frente del solvente y se permite la evaporación del excedente de solvente, usando la plancha caliente de ser necesario.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Se seca el resto del solvente residual y se observa la placa cromatográfica bajo luz ultravioleta de 254 nm usando la lámpara de pilas suministrada. Éste método se utiliza tanto para la identificación de la lumefantrina como para su valoración cuantitativa. La identidad de la lumefantrina y su contenido pueden verificarse adicionalmente observando la placa a la luz del día tras el manchado con yodo. El proceso completo de manchado puede tomar de 5 a 10 minutos.

Una vez se haya verificado la presencia de lumefantrina, puede exponerse la placa al manchado con ácido sulfúrico para la detección de los residuos de artemetero extraídos al tiempo con la lumefantrina. Éste procedimiento puede efectuarse aún tras haberse expuesto la placa CCF a los vapores de yodo. En la página 10 del presente suplemento está descrito el procedimiento de manchado y observación de la placa a la luz del día. Después de éste proceso es posible verificar adicionalmente la presencia de residuos de artemetero exponiendo la placa manchada a luz ultravioleta de 366 nm en un cuarto oscuro.

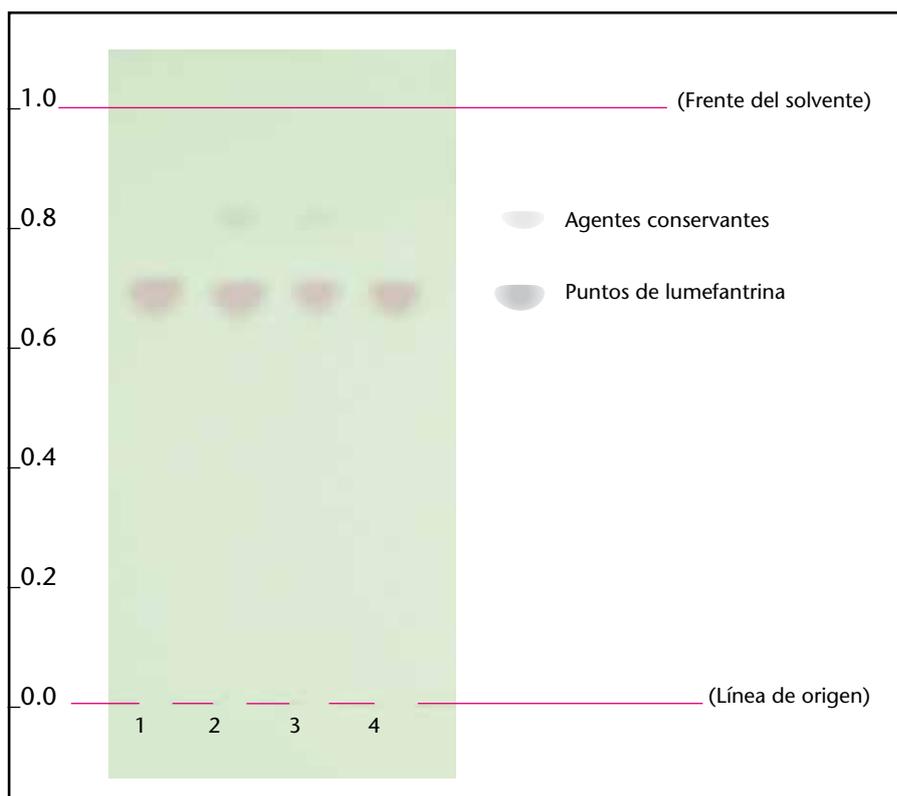
XI. PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO LUZ UV DE 254 NM

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

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

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

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



XII. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Un punto de color azul-violeta intenso a una distancia de recorrido de aprox. 0.69 indica la presencia de lumefantrina en la solución de ensayo. No deben hacerse visibles otros puntos a excepción de un tenue punto generado por el agente conservante que puede ser algún tipo de benzoato o parabeno a una distancia de recorrido de aprox. 0.81 y de otros aditivos, como sacarosa por ejemplo, por debajo de un factor de retención relativo de 0.20, cerca o sobre la línea de origen al trabajar con el polvo seco para suspensiones orales. La sacarina sódica usada como endulcorante en los comprimidos dispersables se asentará a aprox. 0.45 pero se mantendrá por debajo del nivel de detección debido a la fuerte dilución en la preparación de las muestras. Puntos adicionales de color intenso generados por la solución de ensayo podrían indicar la presencia de otros agentes activos o una degradación de la lumefantrina siendo éste último caso el más probable, si van asociados a un punto principal de menor tamaño. La fracción de artemetero asentada cerca al frente del solvente a una distancia de aprox. 0.85 se mantiene invisible en este momento. Para la identificación de este componente, se procede según lo indicado en la página 8 del presente suplemento.

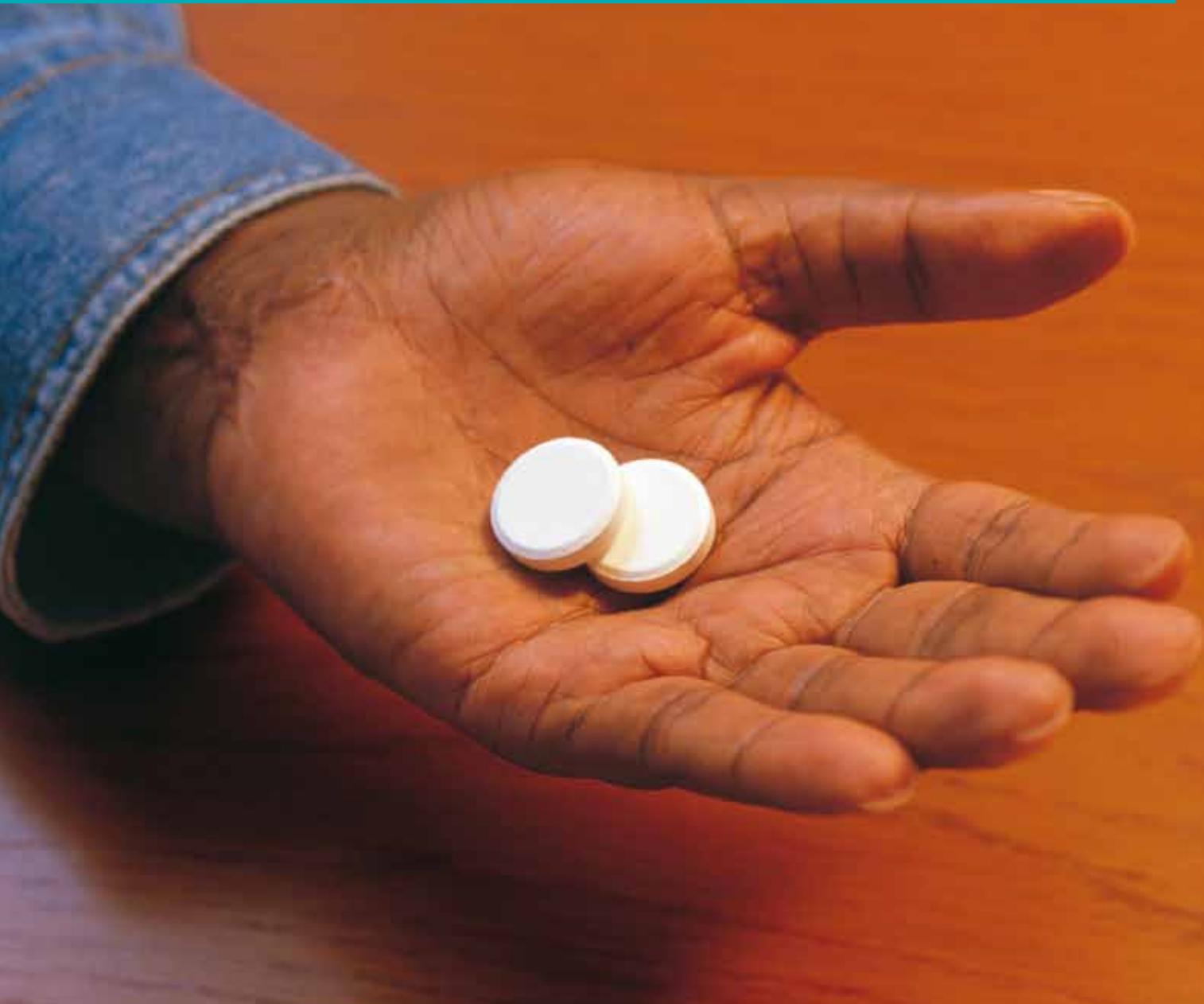
XIII. OBSERVACIONES HECHAS A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON YODO

Al exponer la placa cromatográfica a los vapores de yodo, todos los puntos de lumefantrina detectados bajo la luz UV de 254 nm se irán tornando amarillentos. Se continúa observando la placa conforme se vaya evaporando el yodo. Los puntos generados por productos de baja calidad desaparecerán primero gradualmente, seguidos por los puntos del fármaco de referencia con un contenido de 80% y 100%, respectivamente.

XIV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

El punto de lumefantrina 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 la prueba desde el principio con una segunda muestra. El lote es rechazado, si el contenido del agente activo no puede verificarse a la tercera prueba. 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. Con el fin de documentar los ensayos, fotografíe todos los resultados con una cámara digital con la luz de flash desactivada.

Auténtico o falsificado?



Luchando contra los medicamentos falsificados · Protegiendo la vida



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

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



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE



PROMOTING THE QUALITY OF MEDICINES

**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. +1-202-712-4789
Fax +1-202-216-3702
aboni@usaid.gov · www.usaid.gov

United States Pharmacopeia
Promoting the Quality
of Medicines program
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790, USA
Tel. +1-301-816-8162
Fax +1-301-816-8374
pqm@usp.org · www.pqmusp.org