

Manual

Para usuarios de GPHF-Minilab™

**Ampliación 2024
en más fármacos para
tratar trastornos
diabéticos et al.**

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



El programa de Promoción de la Calidad de Medicamentos "Promoting the Quality of Medicines (PQM)", financiado por la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional "U.S. Agency for International Development (USAID)", está implementado por la Convención Farmacopea Estadounidense "U.S. Pharmacopeial Convention (USP)".

Capítulo	Página
Salud y seguridad.....	3
Nuevos protocolos de ensayo del Minilab.....	4
7.114 Carbamazepina.....	4
7.115 Empaglifozina <i>incl. combinaciones con linagliptina</i>	8
7.116 Gliclazida <i>incl. combinaciones con metformina</i>	12
7.117 Glimepirida.....	16
7.118 Sitagliptina <i>clorhidrato/fosfato/tartrato/malato incl. sus hidratos, con o sin metformina</i>	20
7.119 Vildagliptina <i>incl. combinaciones con metformina, y afines linagliptina y sildagliptina</i>	24

Nota importante

Tanto los productos químicos contenidos en el GPHF-Minilab™ así como los fármacos que van a ser analizados contienen sustancias peligrosas. Por este motivo, las personas que trabajan directamente con el Minilab y las personas que los asisten deben seguir en detalle las instrucciones dadas en este manual y en el manual principal para evitar riesgos potenciales en la salud como resultado del contacto accidental con estas sustancias o fármacos respectivamente.

Se debe tener cuidado con el manejo de productos químicos y fármacos para evitar la producción excesiva de polvos y vapores en la atmósfera. Un extractor de aire debe ser utilizado en los momentos de mayor producción de gases o vapores. En caso de no tener a disposición un extractor, este puede ser reemplazado por una ventilación simple pero suficiente.

Síntomas tales como somnolencia, problemas respiratorios, náuseas o dermatitis deben ser reportados con prontitud a los supervisores, especialmente, luego de una

pérdida accidental al derramar grandes cantidades de disolventes orgánicos.

Si al haber derramado o salpicado líquidos, se afectan la piel o los ojos, se deben lavar con abundante agua, reportar al supervisor y si es necesario a los médicos locales para recibir la atención apropiada.

Se deben usar trajes y lentes de protección cuando se trabaje con soluciones agresivas, por ejemplo, ácidos fuertes o soluciones alcalinas.



Utilice ropa de protección, p.ej. un mandil/delantal y gafas de seguridad, antes de comenzar cualquier trabajo de comprobación de la calidad de los medicamentos. Lávese bien las manos y la cara después del trabajo.

7.114 Carbamazepina

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Durante la inspección visual, busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios del manual principal, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido masticable, soluble o de liberación sostenida suele contener 200, 300, 400 ó 600 mg de carbamazepina por base libre. Se sabe que

existen otras 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 carbamazepina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración descrita al principio del manual principal. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si un fármaco de liberación rápida no pasa el ensayo, es una deficiencia importante.

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 los medicamentos conservados en malas condiciones deberán ser sometidos a un ensayo cromatográfico en capa fina.

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

I. PRINCIPIO

La carbamazepina se extrae de los comprimidos o cápsulas con una cantidad conocida de metanol y, a continuación, se comprueba su identidad y contenido mediante cromatografía en capa fina (CCF) frente a un agente de referencia adecuado.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- 1) Mano de mortero
- 2) Papel aluminio
- 3) Embudo
- 4) Espátula
- 5) Cinta adhesiva
- 6) Rotulador
- 7) Lápiz y regla
- 8) Viales de 10 ml
- 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml)
- 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml)
- 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm
- 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad
- 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml)
- 14) Plancha de calefacción
- 15) Papel de filtro
- 16) Tijeras
- 17) Pinza
- 18) Luz ultravioleta de 254 nm
- 19) Luz ultravioleta de 366 nm
- 20) Tolueno
- 21) Metanol
- 22) Acetato de etilo
- 23) Solución de ácido sulfúrico al 96%
- 24) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de carbamazepina de 200 mg

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como agente de referencia, por ejemplo, comprimidos que contengan 200 mg de carbamazepina. Se envuelve el comprimido usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Vaciar cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y enjuagar todas las cantidades de polvo restantes con 10 ml de metanol usando una pipeta graduada. Cerrar el frasco de laboratorio y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva 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 20 mg de carbamazepina total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de carbamazepina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido claro o turbio obtenido.

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

Pipetear 0,5 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 9,5 ml de metanol. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 1 mg de fármaco total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de carbamazepina al 100%*'.

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

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

Pipetear 0,5 ml de la solución madre del estándar en un vial de 25 ml y añadir 12 ml de metanol utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 0.8 mg de carbamazepina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de carbamazepina al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de carbamazepina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de carbamazepina representa el límite inferior aceptable para un producto dado. Los límites de la farmacopea no se aplican en nuestro contexto.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 200 MG DE CARBAMAZEPINA POR UNIDAD

Tomar un comprimido entero o una cápsula de un medicamento adecuado muestreado en el campo. Como es habitual, los comprimidos se envuelven en papel de aluminio y se trituran hasta obtener un polvo fino. Transfiera todo el polvo obtenido a un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml. El polvo obtenido de las cápsulas de muestra debe colocarse directamente en el frasco añadiendo en último lugar los tapones vacíos y las carcassas del cuerpo. Para la extracción, añada 10 ml de metanol utilizando una pipeta graduada adecuada. A continuación, cerrar el frasco y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva la mayor parte de los sólidos. Dejar reposar la solución durante otros cinco minutos hasta que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

300 MG DE CARBAMAZEPINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 15 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la carbamazepina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

400 MG DE CARBAMAZEPINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 20 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la carbamazepina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

600 MG DE CARBAMAZEPINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 50 ml, añadir 30 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la carbamazepina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

Todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 20 mg de carbamazepina total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de carbamazepina*'. Estas soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Siga trabajando con los líquidos sobrenadantes claros o turbios.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Pipetear 0,5 ml de la solución madre de la muestra a un vial de 10 ml y añadir 9,5 ml de metanol. Cerrar y agitar el vial; etiquetarlo como '*Solución de trabajo de la muestra de carbamazepina*'.

La concentración esperada de carbamazepina en la solución de trabajo de la muestra es de 1 mg por ml. Debería corresponderse con la concentración de carbamazepina descrita antes para la solución estándar de trabajo superior.

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.

Pueden colocarse hasta cinco manchas en una placa. Comprobar la uniformidad de todas las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deben tener forma circular y estar igualmente espaciadas a lo largo de la línea de origen. Aunque sus intensidades pueden diferir, sus diámetros nunca deberían hacerlo. Las diferentes intensidades se deben a cantidades residuales de excipientes o a diferentes concentraciones de principios activos en las soluciones de la muestra. Una diferencia en el tamaño de las manchas se debe a una mala siembra de las muestras. Repita este paso si no se consigue una siembra homogénea de las muestras la primera vez.

Seque suavemente las manchas. Para ello, mantenga la cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos 15 segundos. Agite constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaque se desplace hacia abajo, deje que su parte inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 10 ml de acetato de etilo, 8 ml de tolueno y 2 ml de metanol al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Cerrar la cuba y mezclar bien. Forrar la pared de la cuba con papel de filtro y esperar unos 15 minutos, asegurando así la saturación de la cuba con vapor de disolvente. Colocar con cuidado la placa de CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente se haya desplazado unas tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 12 minutos. Retire la placa CCF de la cuba, marque el frente de disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore por secado suave. Para ello, mantenga la cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos dos minutos. Agitar constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaque se desplace hacia abajo, dejar que su lado inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Después de secar todos los residuos de disolvente, ver la placa de cromatografía bajo luz ultravioleta a 254 nm con la lámpara accionada por batería suministrada. Para una mayor identificación de la carbamazepina, manchar la cromatoplaque fresca con ácido sulfúrico y calentar. Para ello, llene el vaso de plástico de 250 ml suministrado con 190 ml de metanol, seguidos de 10 ml de solución de ácido sulfúrico al 96%, y mezcle bien. Dejar enfriar la mezcla y sumergir la placa cromatográfica en la solución de coloración con la cara inferior primero. Retirar inmediatamente la placa de la solución y dejar escurrir el exceso de líquido sobre una toalla de papel. Limpie el líquido restante de la parte posterior de la placa y seque toda la solución de coloración durante unos 30 a 60 segundos a temperatura máxima en la placa caliente suministrada. Tras retirar la placa cromatográfica de la placa calefactora, observar la placa manchada bajo luz UV a 254 y 366 nm en la oscuridad.

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO
LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando
100% de contenido de carbamazepina

Recorrido No. 2:

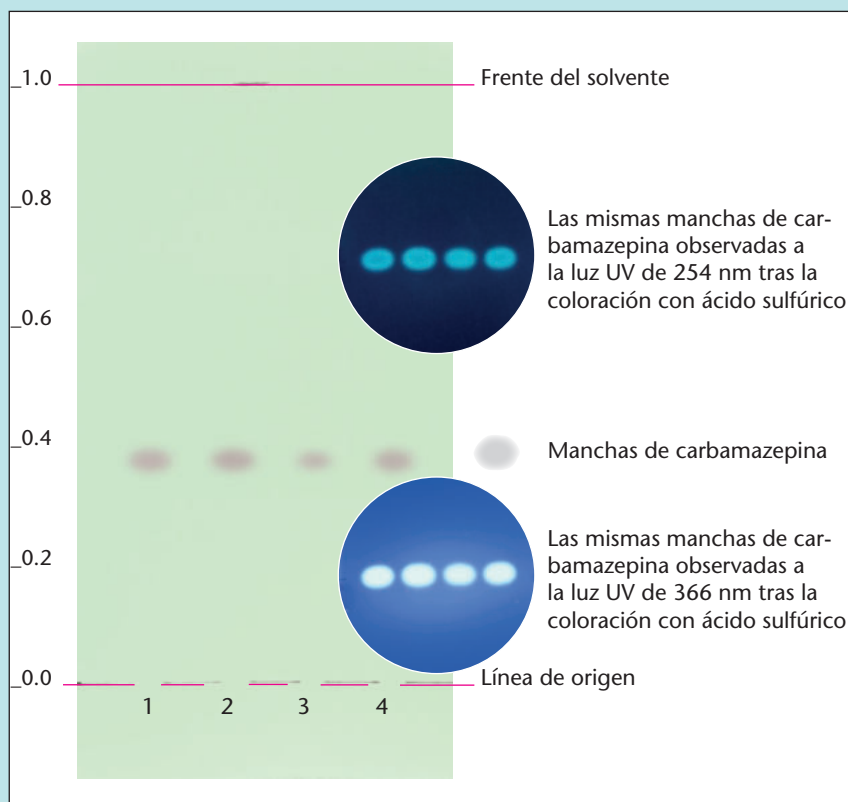
Fármaco de buena calidad con contenido
aceptable en carbamazepina

Recorrido No. 3:

Fármaco de calidad deficiente con conte-
nido inaceptable bajo en carbamazepina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando
80% de contenido de carbamazepina



XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha oscura a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.37 indica la presencia de carbamazepina en la solución de ensayo. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de carbamazepina, 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 indicar un contenido pobre de carbamazepina y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de carbamazepina. Los excipientes presentes en varios productos acabados pueden causar manchas más débiles que migran hasta el frente del disolvente o permanecen cerca o en la línea de origen.

XII. OBSERVACIONES HECHAS A LA
LUZ UV DE 254 Y 366 NM TRAS
EL MANCHADO CON ACIDO
SULFURICO

Cuando la placa cromatográfica se tiñe con ácido sulfúrico y al calor, no se observan manchas de carbamazepina a la luz del día. Sin embargo, si la placa teñida se irradia con luz ultravioleta de 254 y 366 nm en una habitación oscura, todas las manchas de carbamazepina muestran ahora una fluorescencia extremadamente fuerte, que apenas se observa con ningún otro principio activo farmacéutico.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de carbamazepina 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. A efectos de documentación, tome fotos de todas las lecturas con una cámara digital o un smartphone.

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Durante la inspección visual, busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios del manual principal, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido suele contener 10 o 25 mg de empaglifozina. Cuando se combina con linagliptina, la dosis se reduce a 5 o 12,5 mg de empaglifozina. Las combinaciones de

dosis fijas de metformina no están aprobadas en la Unión Europea. 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 empaglifozina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración descrita al principio del manual principal. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si un fármaco de liberación rápida no pasa el ensayo, es una deficiencia importante.

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 los medicamentos conservados en malas condiciones deberán ser sometidos a un ensayo cromatográfico en capa fina.

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

I. PRINCIPIO

Combinada o no con linagliptina, la empaglifozina se extrae de los comprimidos o cápsulas con una cantidad conocida de metanol y, a continuación, se comprueba su identidad y contenido mediante cromatografía en capa fina (CCF) frente a un agente de referencia adecuado.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|--|
| 1) Mano de mortero | 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) |
| 2) Papel aluminio | 14) Plancha de calefacción |
| 3) Embudo | 15) Papel de filtro |
| 4) Espátula | 16) Tijeras |
| 5) Cinta adhesiva | 17) Pinza |
| 6) Rotulador | 18) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 7) Lápiz y regla | 19) Tolueno |
| 8) Viales de 10 ml | 20) Metanol |
| 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 21) Butan-1-ol |
| 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 22) Acetato de etilo |
| 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 23) Amoníaco en solución al 25% |
| 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad | 24) Solución de ácido acético al 96% |
| | 25) Solución de ácido sulfúrico al 96% |
| | 26) Agua destilada/grifo/embotellada |
| | 27) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de empaglifozina de 25 mg |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como agente de referencia, por ejemplo, comprimidos que contengan 25 mg de empaglifozina. Se envuelve el comprimido usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Vaciar cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y enjuagar todas las cantidades de polvo restantes con 10 ml de metanol usando una pipeta graduada. Cerrar el frasco de laboratorio y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva 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 2,5 mg de empaglifozina total por ml y se debe rotular 'Solución madre del estándar de empaglifozina'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido claro o turbio obtenido.

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

La solución madre del estándar no requiere de dilución posterior, ya presenta la concentración final de trabajo de 2,5 mg de empaglifozina total por ml. Para una manipulación más cómoda, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un nuevo vial de 10 ml.

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

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

Pipetear 2 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 0,5 ml de metanol utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 2 mg de empaglifozina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de empaglifozina al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de empaglifozina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de empaglifozina representa el límite inferior aceptable para un producto dado. Los límites de la farmacopea no se aplican en nuestro contexto.

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

Tomar dos comprimidos enteros o cápsulas de un medicamento adecuado muestreado en el campo. Como es habitual, los comprimidos se envuelven en papel de aluminio y se trituran hasta obtener un polvo fino. Transfiera todo el polvo obtenido a un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml. El polvo obtenido de las cápsulas de muestra debe colocarse directamente en el frasco añadiendo en último lugar los tapones vacíos y las carcasas del cuerpo. Para la extracción, añada 4 ml de metanol utilizando una pipeta graduada adecuada. A continuación, cerrar el frasco y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva la mayor parte de los sólidos. Dejar reposar la solución durante otros cinco minutos hasta que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

10 MG DE EMPAGLIFOZINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 4 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la empaglifozina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

12,5 MG DE EMPAGLIFOZINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 5 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la empaglifozina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

25 MG DE EMPAGLIFOZINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 10 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la empaglifozina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

Combinada o no con linagliptina, todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 2,5 mg de empaglifozina total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de empaglifozina*'. Estas soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Siga trabajando con los líquidos sobrenadantes claros o turbios.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Las soluciones madre de la muestra no requieren dilución adicional, puesto que ya representan la concentración de trabajo final de 2,5 mg de empaglifozina por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de empaglifozina de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de empaglifozina de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba. Para facilitar la manipulación, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un vial de 10 ml.

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.

Pueden colocarse hasta cinco manchas en una placa. Comprobar la uniformidad de todas las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deben tener forma circular y estar igualmente espaciadas a lo largo de la línea de origen. Aunque sus intensidades pueden diferir, sus diámetros nunca deberían hacerlo. Las diferentes intensidades se deben a cantidades residuales de excipientes o a diferentes principios activos y concentraciones de fármacos en las soluciones de muestra. Una diferencia en el tamaño de las manchas se debe a una mala siembra de las muestras. Repita este paso si no se consigue una siembra homogénea de las muestras la primera vez.

Por último, secar las manchas colocando la placa de CCF sobre la placa calefactora caliente durante unos 15 segundos.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 11 ml de acetato de etilo, 7 ml de metanol, 1 ml de tolueno y 1 ml de amoníaco en solución al 25% al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Esta fase móvil «A» funciona rápidamente. Una fase móvil alternativa «B» compuesta por 12 ml de butan-1-ol, 6 ml de agua y 3 ml de solución de ácido acético al 96% funciona más lentamente y necesita aproximadamente el doble de tiempo para el desarrollo de la placa de CCF. Pero ayudará a generar más información sobre la identificación y el contenido. Después de la preparación de la fase móvil, cerrar la cámara cada vez y mezclar bien. Forrar la pared de la cuba con papel de filtro y esperar unos 15 minutos, asegurando así la saturación de la cuba con vapor de disolvente. Colocar con cuidado la placa de CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa cromatográfica hasta que el frente de disolvente se haya desplazado unas tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 15 minutos para la fase móvil «A» y de unos 40 minutos para la fase móvil «B». Retire la placa CCF de la cuba, marque el frente de disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore por secado suave. Para ello, mantenga la cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos dos minutos. Agitar constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaque se desplace hacia abajo, dejar que su lado inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Después de secar todos los residuos de disolvente, ver la placa de cromatografía bajo luz ultravioleta a 254 nm con la lámpara accionada por batería suministrada. Para una mayor identificación y cuantificación de la empaglifozina, manchar la cromatoplaque fresca con ácido sulfúrico y calentar. Para ello, llene el vaso de plástico de 250 ml suministrado con 190 ml de metanol, seguidos de 10 ml de solución de ácido sulfúrico al 96%, y mezcle bien. Dejar enfriar la mezcla y sumergir la placa cromatográfica en la solución de coloración con la cara inferior primero. Retirar inmediatamente la placa de la solución y dejar escurrir el exceso de líquido sobre una toalla de papel. Limpie el líquido restante de la parte posterior de la placa y seque toda la solución de coloración durante unos 30 a 60 segundos a temperatura máxima en la placa caliente suministrada. Tras retirar la placa cromatográfica de la placa calefactora, observe la placa manchada a la luz del día.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Fase móvil «A»: Una mancha muy débil a una distancia de recorrido de aproximadamente 0,43 indica la presencia de empaglifozina en la solución de ensayo. Cuando se combina con linagliptina aparece una mancha fuerte adicional por encima de la empaglifozina con un valor de relación de frentes de aproximadamente 0,63. La lactosa permanece en la línea de origen y el manitol permanece invisible a una distancia de recorrido de aproximadamente 0,10 o inferior.

Fase móvil «B»: Una mancha muy tenue a una distancia de recorrido de aproximadamente 0,69 indica la presencia de empaglifozina en la solución de ensayo. Cuando se combina con

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

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de empaglifozina

Recorrido No. 2:

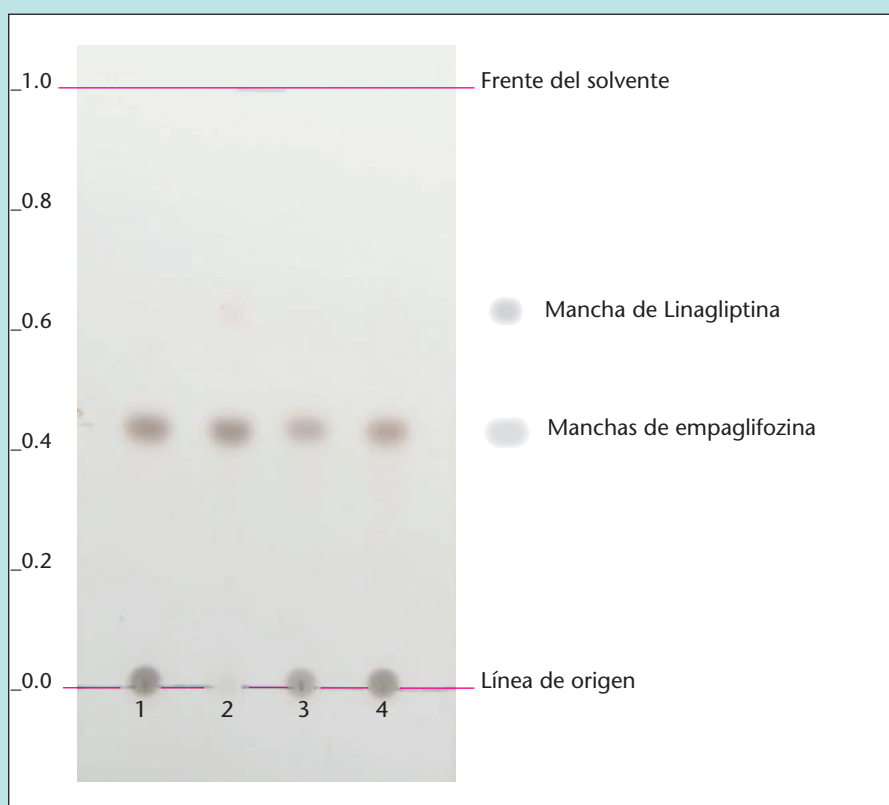
Una combinación de dosis fija de linagliptina de buena calidad con un contenido aceptable en empaglifozina

Recorrido No. 3:

Fármaco único de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en empaglifozina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de empaglifozina



linagliptina aparece una mancha fuerte adicional debajo de la empaglifozina con un valor de relación de frentes de aproximadamente 0,41. Con esta fase móvil, la lactosa mostrará una distancia de recorrido de aproximadamente 0,14 y el manitol de aproximadamente 0,25 cuando se detectan de forma diferente.

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

Cuando las placas cromatográficas de ambas fases móviles se tiñen con ácido sulfúrico y se calientan, todas las manchas de empaglifozina se vuelven gris-negras y visibles a la luz del día. Las manchas de linagliptina permanecen invisibles o se vuelven ligeramente rosadas. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de empaglifozina, 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 indicar un contenido pobre de empaglifozina y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de empaglifozina. Los excipientes incorporados en varios productos acabados pueden provocar manchas nulas, débiles o parcialmente intensas que se desplazan hasta el frente del disolvente o que permanecen cerca o en la línea de origen. Por ejemplo, la lactosa es aquí un formador de color muy fuerte y también se hace visible. En contraste con la lactosa, el manitol es apenas visible, pero muestra una fluorescencia extremadamente débil cuando la placa de CCF teñida se expone adicionalmente a UV de 366 nm.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de empaglifozina 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. A efectos de documentación, tome fotos de todas las lecturas con una cámara digital o un smartphone.

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Durante la inspección visual, busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios del manual principal, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido soluble o de liberación controlada suele contener 30, 60 u 80 mg de gliclazida. Se sabe que existen otras dosis y coformulaciones con metformina. 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 gliclazida de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración descrita al principio del manual principal. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si un fármaco de liberación rápida no pasa el ensayo, es una deficiencia importante.

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 los medicamentos conservados en malas condiciones deberán ser sometidos a un ensayo cromatográfico en capa fina.

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

I. PRINCIPIO

Combinado o no con clorhidrato de metformina, la gliclazida se extrae de los comprimidos o cápsulas con una cantidad conocida de acetona y, a continuación, se comprueba su identidad y contenido mediante cromatografía en capa fina (CCF) frente a un agente de referencia adecuado. Para una comprobación rápida de la calidad de la metformina, consulte el protocolo correspondiente.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|---|
| 1) Mano de mortero | 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) |
| 2) Papel aluminio | 14) Plancha de calefacción |
| 3) Embudo | 15) Papel de filtro |
| 4) Espátula | 16) Tijeras |
| 5) Cinta adhesiva | 17) Pinza |
| 6) Rotulador | 18) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 7) Lápiz y regla | 19) Cámara de manchado con yodo |
| 8) Viales de 10 ml | 20) Ninhidrina |
| 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 21) Acetona |
| 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 22) Metanol |
| 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 23) Acetato de etilo |
| 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad | 24) Solución de amoníaco al 25% |
| | 25) Solución de ácido acético al 96% |
| | 26) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de gliclazida de 60 mg |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como agente de referencia, por ejemplo, comprimidos monofármaco que contengan 60 mg de gliclazida. Se envuelve el comprimido usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Vaciar cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y enjuagar todas las cantidades de polvo restantes con 6 ml de acetona usando una pipeta graduada. Cerrar el frasco de laboratorio y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva 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 de gliclazida total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de gliclazida*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido claro o turbio obtenido.

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

Pipetear 1 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 3 ml de acetona. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 2,5 mg de fármaco total por ml y etiquetarse como 'Solución estándar de trabajo de gliclazida al 100%'.

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

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

Pipetear 1 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 4 ml de acetona utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 2 mg de gliclazida total por ml y etiquetarse como 'Solución estándar de trabajo de gliclazida al 80%'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de gliclazida de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de gliclazida representa el límite inferior aceptable para un producto dado. Los límites de la farmacopea no se aplican en nuestro contexto.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 30 MG DE GLICLAZIDA POR UNIDAD

Tomar un comprimido entero o una cápsula de un medicamento adecuado muestreado en el campo. Como es habitual, los comprimidos se envuelven en papel de aluminio y se trituran hasta obtener un polvo fino. Transfiera todo el polvo obtenido a un frasco de vidrio de laboratorio de 10 ó 25 ml. El polvo obtenido de las cápsulas de muestra debe colocarse directamente en el frasco añadiendo en último lugar los tapones vacíos y las carcasas del cuerpo. Para la extracción, añada 3 ml de acetona utilizando una pipeta graduada adecuada. A continuación, cerrar el frasco y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva la mayor parte de los sólidos. Dejar reposar la solución durante otros cinco minutos hasta que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

60 MG DE GLICLAZIDA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 6 ml de acetona con una pipeta graduada adecuada y extraer la gliclazida. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

80 MG DE GLICLAZIDA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 8 ml de acetona con una pipeta graduada adecuada y extraer la gliclazida. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

Combinado o no con clorhidrato de metformina, todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 10 mg de gliclazida total por ml y ser etiquetadas como 'Solución madre de la muestra de gliclazida'. Estas soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Siga trabajando con los líquidos sobrenadantes claros o turbios.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Pipetear 1 ml de la solución madre de la muestra a un vial de 10 ml y añadir 3 ml de acetona. Cerrar y agitar el vial; etiquetarlo como 'Solución de trabajo de la muestra de gliclazida'.

La concentración esperada de gliclazida en la solución de trabajo de la muestra es de 2,5 mg por ml. Debería corresponderse con la concentración de gliclazida descrita antes para la solución estándar de trabajo superior.

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 la página siguiente, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

Pueden colocarse hasta cinco manchas en una placa. Comprobar la uniformidad de todas las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deben tener forma circular

y estar igualmente espaciadas a lo largo de la línea de origen. Aunque sus intensidades pueden diferir, sus diámetros nunca deberían hacerlo. Las diferentes intensidades se deben a cantidades residuales de excipientes o a diferentes principios activos y concentraciones de fármacos en las soluciones de la muestra. Una diferencia en el tamaño de las manchas se debe a una mala siembra de las muestras. Repita este paso si no se consigue una siembra homogénea de las muestras la primera vez.

Seque suavemente las manchas. Para ello, mantenga la cromatoplaca con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos 15 segundos. Agite constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaca se desplace hacia abajo, deje que su parte inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 15 ml de acetato de etilo, 5 ml de metanol y 1 ml de solución de amoníaco al 25% al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Cerrar la cuba y mezclar bien. Forrar la pared de la cuba con papel de filtro y esperar unos 15 minutos, asegurando así la saturación de la cuba con vapor de disolvente. Colocar con cuidado la placa de CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente se haya desplazado unas tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 13 minutos. Retire la placa CCF de la cuba, marque el frente de disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore por secado suave. Para ello, mantenga la cromatoplaca con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos dos minutos. Agitar constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaca se desplace hacia abajo, dejar que su lado inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Después de secar todos los residuos de disolvente, ver la placa de cromatografía bajo luz ultravioleta a 254 nm con la lámpara accionada por batería suministrada. Para una mayor identificación y cuantificación de la gliclazida, manchar la placa cromatográfica con yodo en la cámara de yodo y con ninhidrina y el calor.

Si el residuo de yodo en la placa es mínimo, la placa de yodo puede seguir utilizándose para la coloración con ninhidrina. Si hay mucho yodo en la placa cromatográfica, el yodo puede eliminarse calentando ligeramente la placa de CCF. Para la coloración posterior, pesar 3 g de ninhidrina (unas 10 veces una espátula bien llena) y disolverla en una mezcla de 150 ml de metanol y 30 ml de solución de ácido acético al 96% en el vaso de precipitados de 250 ml suministrado. Sumergir la placa cromatográfica, primero la parte inferior, en la solución de coloración utilizando unas pinzas. Sacar inmediatamente la placa de la solución y dejar escurrir el exceso de líquido sobre una toalla de papel. Espere otro minuto, limpie el líquido residual de la parte posterior de la placa y, a continuación, proceda a secar toda la solución de coloración a pleno calor en la placa calefactora suministrada. Durante el calentamiento, las manchas de gliclazida se harán gradualmente visibles a la luz del día al cabo de un minuto aproximadamente. El procedimiento de coloración con ninhidrina se muestra en la página 36 del manual principal. Tenga en cuenta que la piel contaminada con la solución de ninhidrina también se manchará. Sin embargo, esto no es peligroso para la salud y las manchas púrpuras desaparecen después de uno o dos días.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha débil a una distancia de recorrido de aproximadamente 0,29 indica la presencia de gliclazida en la solución de ensayo. Como el clorhidrato de metformina es insoluble en acetona, no se aprecia una segunda mancha en las soluciones de ensayo procedentes de coformulaciones de metformina. Cualquier residuo de metformina permanecería en la línea de origen. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de gliclazida, siendo este último caso más probable cuando se asocia a una mancha principal más pequeña. Una mancha principal más pequeña de la

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO
LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando
100% de contenido de gliclazida

Recorrido No. 2:

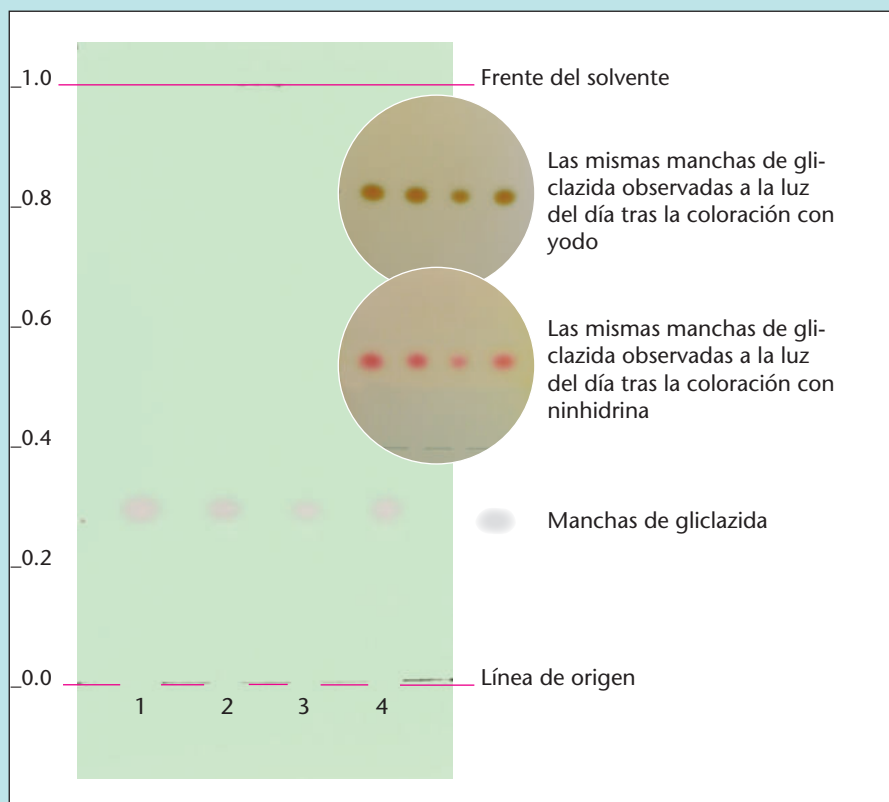
Fármaco de buena calidad con contenido
aceptable en gliclazida

Recorrido No. 3:

Fármaco de calidad deficiente con conte-
nido inaceptable bajo en gliclazida

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando
80% de contenido de gliclazida



solución de ensayo también puede indicar un contenido pobre de gliclazida y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de gliclazida. Los excipientes presentes en varios productos acabados pueden causar manchas más débiles que migran hasta el frente del disolvente o permanecen cerca o en la línea de origen.

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

Cuando la placa de cromatografía se tiñe con yodo, todas las manchas de gliclazida observadas anteriormente a 254 nm adquieren un color marrón anaranjado y se hacen visibles a la luz del día. La coloración con yodo ya es fuerte a la luz del día y el rendimiento se hace aún mayor cuando la placa de CCF se irradia de nuevo con luz UV de 254 nm.

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

Una vez eliminado el yodo restante de la placa de CCF por calentamiento, puede iniciarse la coloración con ninhidrina. Todas las manchas de gliclazida adquieren ahora un color rojo rosado por el calor, al igual que el segundo plano de la placa cromatográfica, aunque afortunadamente ambas coloraciones tienen matices e intensidades diferentes.

XIV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de gliclazida 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. A efectos de documentación, tome fotos de todas las lecturas con una cámara digital o un smartphone.

7.117 Glimepirida

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Durante la inspección visual, busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios del manual principal, 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 1, 2, 3, 4 o 6 mg de glimepirida. La glimepirida puede combinarse con metformina añadiendo 500 o incluso 1000 mg de sal de clorhidrato de metformina al comprimido

o cápsula. Se sabe que existen coformulaciones con otros agentes antidiabéticos, por ejemplo, la pioglitazona. 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 gliclazida de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración descrita al principio del manual principal. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si un fármaco de liberación rápida no pasa el ensayo, es una deficiencia importante.

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 los medicamentos conservados en malas condiciones deberán ser sometidos a un ensayo cromatográfico en capa fina.

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

I. PRINCIPIO

La glimepirida se extrae de los comprimidos o cápsulas con un volumen conocido de solución amoniacal de metanol y, a continuación, se comprueba su identidad y contenido mediante cromatografía en capa fina (CCF) en comparación con un agente de referencia adecuado. Cabe señalar que, debido a la proporción desfavorable de glimepirida y clorhidrato de metformina (a menudo 1:500 a 1:1000), las coformulaciones correspondientes no pueden procesarse con este método. Sólo por razones prácticas, la pequeña cantidad de líquido necesaria para la extracción de glimepirida suele ser absorbida completamente por el polvo obtenido de los comprimidos combinados pesados. Además, debido a la ligera deformación de la mancha, la cuantificación de glimepirida a partir de combinaciones de metformina de dosis fija es más que difícil. Sin embargo, la preparación de muestras y la obtención de resultados perfectos en el ensayo CCF a partir de monoformulaciones de glimepirida no son un problema. Para una comprobación rápida de la calidad de la metformina, consulte el protocolo correspondiente.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|---|
| 1) Mano de mortero | 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad |
| 2) Papel aluminio | 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) |
| 3) Embudo | 14) Plancha de calefacción |
| 4) Espátula | 15) Papel de filtro |
| 5) Cinta adhesiva | 16) Tijeras |
| 6) Rotulador | 17) Pinza |
| 7) Lápiz y regla | 18) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 8) Viales de 10 ml | 19) Tolueno |
| 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 20) Metanol |
| 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 21) Acetato de etilo |
| 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 22) Solución de amoníaco al 25% |
| | 23) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de glimepirida de 6 mg |

III. PREPARACIÓN DEL DISOLVENTE DE EXTRACCIÓN

Para obtener la solución de metanol amoniacal para la extracción de glimepirida, trabajar con una mezcla de una parte de solución de amoníaco al 25 % y 39 partes de metanol. Cuando se trabaja sólo con dos muestras, la cantidad total de solución de metanol amoniacal necesaria para preparar las soluciones de control y de ensayo no supera los 20 ml. Para ello, mezclar 0,5 ml de solución amoniacal al 25 % con 19,5 ml de metanol. Para cada muestra adicional, preparar de 2 a 6 ml más de líquido de extracción.

IV. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como agente de referencia, por ejemplo, comprimidos monofármaco que contengan 6 mg de glimepirida. Se envuelve el comprimido usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Vaciar cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 10 o 25 ml y enjuagar todas las cantidades de polvo restantes con 6 ml de solución de metanol amoniacal usando una pipeta graduada. Cerrar el frasco de laboratorio y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva 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 1 mg de glimepirida total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de glimepirida*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido claro o turbio obtenido.

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

La solución madre del estándar no requiere de dilución posterior, ya presenta la concentración final de trabajo de 1 mg de glimepirida total por ml. Para una manipulación más cómoda, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un nuevo vial de 10 ml.

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

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

Pipetear 2 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 0,5 ml de solución de metanol amoniacal utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 0,8 mg de glimepirida total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de glimepirida al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de glimepirida de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de glimepirida representa el límite inferior aceptable para un producto dado. Los límites de la farmacopea no se aplican en nuestro contexto.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 1 MG DE GLIMEPIRIDA POR UNIDAD

Tomar dos comprimidos enteros o cápsulas de un medicamento adecuado muestreado en el campo. Como es habitual, los comprimidos se envuelven en papel de aluminio y se trituran hasta obtener un polvo fino. Transfiere todo el polvo obtenido a un frasco de vidrio de laboratorio de 10 o 25 ml. El polvo obtenido de las cápsulas de muestra debe colocarse directamente en el frasco añadiendo en último lugar los tapones vacíos y las carcassas del cuerpo. Para la extracción, añade 2 ml de solución de metanol amoniacal utilizando una pipeta graduada adecuada. A continuación, cerrar el frasco y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva la mayor parte de los sólidos. Dejar reposar la solución durante otros cinco minutos hasta que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

2 MG DE GLIMEPIRIDA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 10 o 25 ml, añadir 2 ml de solución de metanol amoniacal con una pipeta graduada adecuada y extraer la glimepirida. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

3 MG DE GLIMEPIRIDA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 10 o 25 ml, añadir 3 ml de solución de metanol amoniacal con una pipeta graduada adecuada y extraer la glimepirida. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

4 MG DE GLIMEPIRIDA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 10 o 25 ml, añadir 4 ml de solución de metanol amoniacal con una pipeta graduada adecuada y extraer la glimepirida. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

6 MG DE GLIMEPIRIDA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 10 o 25 ml, añadir 6 ml de solución de metanol amoniacal con una pipeta graduada adecuada y extraer la glimepirida. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

Combinado o no con otros agentes antidiabéticos, todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 1 mg de glimepirida total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de glimepirida*'. Estas soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Siga trabajando con los líquidos sobrenadantes claros o turbios.

VIII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Las soluciones madre de la muestra no requieren dilución adicional, puesto que ya representan la concentración de trabajo final de 1 mg de glimepirida por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de glimepirida de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de glimepirida de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba. Para facilitar la manipulación, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un vial de 10 ml.

IX. 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.

Pueden colocarse hasta cinco manchas en una placa. Comprobar la uniformidad de todas las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deben tener forma circular y estar igualmente espaciadas a lo largo de la línea de origen. Aunque sus intensidades pueden diferir, sus diámetros nunca deberían hacerlo. Las diferentes intensidades se deben a cantidades residuales de excipientes o a diferentes principios activos y concentraciones de fármacos en las soluciones de la muestra. Una diferencia en el tamaño de las manchas se debe a una mala siembra de las muestras. Repita este paso si no se consigue una siembra homogénea de las muestras la primera vez.

Seque las manchas. Para ello, coloque la placa cromatográfica sobre la placa calefactora caliente durante unos 10 segundos.

X. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 12 ml de tolueno, 8 ml de acetato de etilo, 4 ml de metanol y 0,05 ml de solución de amoníaco al 25% al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Cerrar la cuba y mezclar bien. Forrar la pared de la cuba con papel de filtro y esperar unos 15 minutos, asegurando así la saturación de la cuba con vapor de disolvente. Colocar con cuidado la placa de CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente se haya desplazado unas tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 12 minutos. Retire la placa CCF de la cuba, marque el frente de disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore por secado suave. Para ello, mantenga la cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos dos minutos. Agitar constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaque se desplace hacia abajo, dejar que su lado inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

XI. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Después de secar todos los residuos de disolvente, ver la placa de cromatografía bajo luz ultravioleta a 254 nm con la lámpara accionada por batería suministrada. Este método de detección será adecuado para la identificación y cuantificación de la glimepirida.

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO
LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando
100% de contenido de glimepirida

Recorrido No. 2:

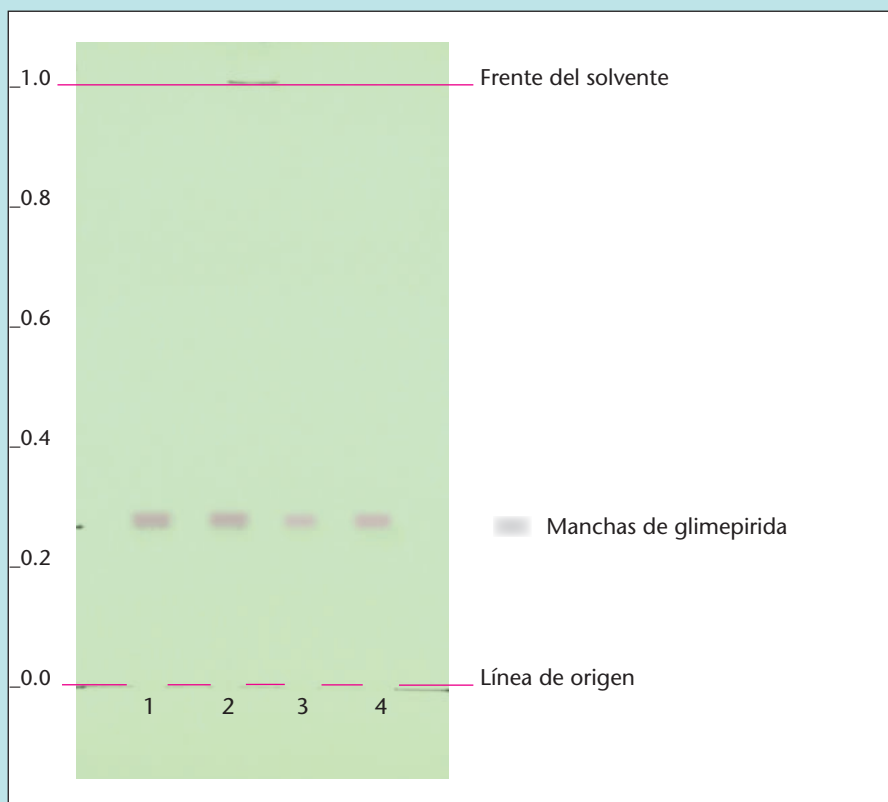
Monofármaco de buena calidad con conte-
nido aceptable en glimepirida

Recorrido No. 3:

Monofármaco de calidad deficiente con
contenido inaceptable bajo en glimepirida

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando
80% de contenido de glimepirida



XII. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha oscura a una distancia de recorrido de aproximadamente 0,28 indica la presencia de glimepirida en la solución de ensayo. Cuando se combina con clorhidrato de metformina, aparece una mancha marcada de metformina en la línea de origen, y cuando además se combina con pioglitazona, aparece una tercera mancha con una pequeña cola a una distancia de aproximadamente 0,38 directamente por encima de la mancha de glimepirida. La fase móvil consistente en una solución de tolueno:acetato de etilo:ácido acético al 96% (12:8:1 v/v), en la que la pioglitazona se deposita por debajo de la glimepirida y en la que la metformina se deposita de nuevo en la línea de origen, puede considerarse ligeramente mejor para la separación. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de glimepirida, 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 indicar un contenido pobre de glimepirida y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de glimepirida. Los excipientes presentes en varios productos acabados pueden causar manchas nulas o tenues que migran hasta el frente del disolvente o permanecen cerca o en la línea de origen.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de glimepirida 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. A efectos de documentación, tome fotos de todas las lecturas con una cámara digital o un smartphone.

7.118 Sitagliptina clorhidrato/fosfato/tartrato/malato incl. sus hidratos, con o sin metformina

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Durante la inspección visual, busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios del manual principal, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Tanto si la sitagliptina se presenta como sal de hidrocloreto, fosfato, tartrato, fumarato o malato, cada comprimido suele contener 25, 50 o 100 mg de sitagliptina por base libre. La sitagliptina puede combinarse con met-

formina añadiendo 500, 850 o 1000 mg de sal de clorhidrato de metformina a la formulación del comprimido o cápsula. 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 sitagliptina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración descrita al principio del manual principal. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si un fármaco de liberación rápida no pasa el ensayo, es una deficiencia importante.

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 los medicamentos conservados en malas condiciones deberán ser sometidos a un ensayo cromatográfico en capa fina.

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

I. PRINCIPIO

Combinado o no con clorhidrato de metformina, el clorhidrato/fosfato/tartrato/malato de sitagliptina se extrae de los comprimidos o cápsulas con un volumen conocido de metanol y posteriormente se comprueba su identidad y contenido mediante cromatografía en capa fina (CCF) en comparación con un agente de referencia adecuado. Para una comprobación rápida de la calidad de la metformina, consulte el protocolo correspondiente.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- 1) Mano de mortero
- 2) Papel aluminio
- 3) Embudo
- 4) Espátula
- 5) Cinta adhesiva
- 6) Rotulador
- 7) Lápiz y regla
- 8) Viales de 10 ml
- 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml)
- 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml)
- 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm
- 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad
- 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml)
- 14) Plancha de calefacción
- 15) Papel de filtro
- 16) Tijeras
- 17) Pinza
- 18) Luz ultravioleta de 254 nm
- 19) Cámara de manchado con yodo
- 20) Tolueno
- 21) Metanol
- 22) Acetato de etilo
- 23) Solución de amoníaco al 25%
- 24) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de sitagliptina de 50 mg presentados como sal de fosfato monohidrato

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como agente de referencia, por ejemplo, comprimidos monofármaco que contengan 50 mg de sitagliptina por base libre. Se envuelve el comprimido usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Vaciar cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y enjuagar todas las cantidades de polvo restantes con 10 ml de metanol usando una pipeta graduada. Cerrar el frasco de laboratorio y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva 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 de sitagliptina total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de sitagliptina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido claro o turbio obtenido.

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

La solución madre del estándar no requiere de dilución posterior, ya presenta la concentración final de trabajo de 5 mg de sitagliptina total por ml. Para una manipulación más cómoda, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un nuevo vial de 10 ml.

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

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

Pipetear 2 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 0,5 ml de metanol utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 4 mg de sitagliptina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de sitagliptina al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de sitagliptina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de sitagliptina representa el límite inferior aceptable para un producto dado. Los límites de la farmacopea no se aplican en nuestro contexto.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 25 MG DE SITAGLIPTINA POR UNIDAD

Tomar un comprimido entero o una cápsula de un medicamento adecuado muestreado en el campo. Como es habitual, los comprimidos se envuelven en papel de aluminio y se trituran hasta obtener un polvo fino. Transfiere todo el polvo obtenido a un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml. El polvo obtenido de las cápsulas de muestra debe colocarse directamente en el frasco añadiendo en último lugar los tapones vacíos y las carcassas del cuerpo. Para la extracción, añada 5 ml de metanol utilizando una pipeta graduada adecuada. A continuación, cerrar el frasco y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva la mayor parte de los sólidos. Dejar reposar la solución durante otros cinco minutos hasta que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

50 MG DE SITAGLIPTINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 10 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la sitagliptina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

100 MG DE SITAGLIPTINA POR UNIDAD

Colocar el polvo obtenido de un comprimido o cápsula de muestra entera en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml, añadir 20 ml de metanol con una pipeta graduada adecuada y extraer la sitagliptina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

Combinado o no con clorhidrato de metformina, todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 5 mg de sitagliptina total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de sitagliptina*'. Estas soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Siga trabajando con los líquidos sobrenadantes claros o turbios.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Las soluciones madre de la muestra no requieren dilución adicional, puesto que ya representan la concentración de trabajo final de 5 mg de sitagliptina por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de sitagliptina de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de sitagliptina de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba. Para facilitar la manipulación, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un vial de 10 ml.

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.

Pueden colocarse hasta cinco manchas en una placa. Comprobar la uniformidad de todas las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deben tener forma circular y estar igualmente espaciadas a lo largo de la línea de origen. Aunque sus intensidades pueden diferir, sus diámetros nunca deberían hacerlo. Las diferentes intensidades se deben a cantidades residuales de excipientes o a diferentes principios activos y concentraciones de fármacos en las soluciones de la muestra. Una diferencia en el tamaño de las manchas se debe a una mala siembra de las muestras. Repita este paso si no se consigue una siembra homogénea de las muestras la primera vez.

Seque suavemente las manchas. Para ello, mantenga la cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos 15 segundos. Agitar constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaque se desplace hacia abajo, dejar que su lado inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 11 ml de acetato de etilo, 7 ml de metanol, 1 ml de tolueno y 1 ml de solución de amoníaco al 25% al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Cerrar la cuba y mezclar bien. Forrar la pared de la cuba con papel de filtro y esperar unos 15 minutos, asegurando así la saturación de la cuba con vapor de disolvente. Colocar con cuidado la placa de CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente se haya desplazado unas tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 15 minutos. Retire la placa CCF de la cuba, marque el frente de disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore por secado suave. Para ello, mantenga la cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos dos minutos. Agitar constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaque se desplace hacia abajo, dejar que su lado inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Después de secar todos los residuos de disolvente, ver la placa de cromatografía bajo luz ultravioleta a 254 nm con la lámpara accionada por batería suministrada. Para una mayor identificación y cuantificación de la sitagliptina, manchar la cromatoplaque con yodo en la cámara de yodo.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha oscura a una distancia de recorrido de aproximadamente 0,68 indica la presencia de sitagliptina en la solución de ensayo. Cuando se combina con clorhidrato de metformina, aparece un amplio rastro de metformina debajo de sitagliptina con un «valor de relación de frentes» que comienza en cero y termina aproximadamente en 0,38. Otras

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO
LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando
100% de contenido de sitagliptina

Recorrido No. 2:

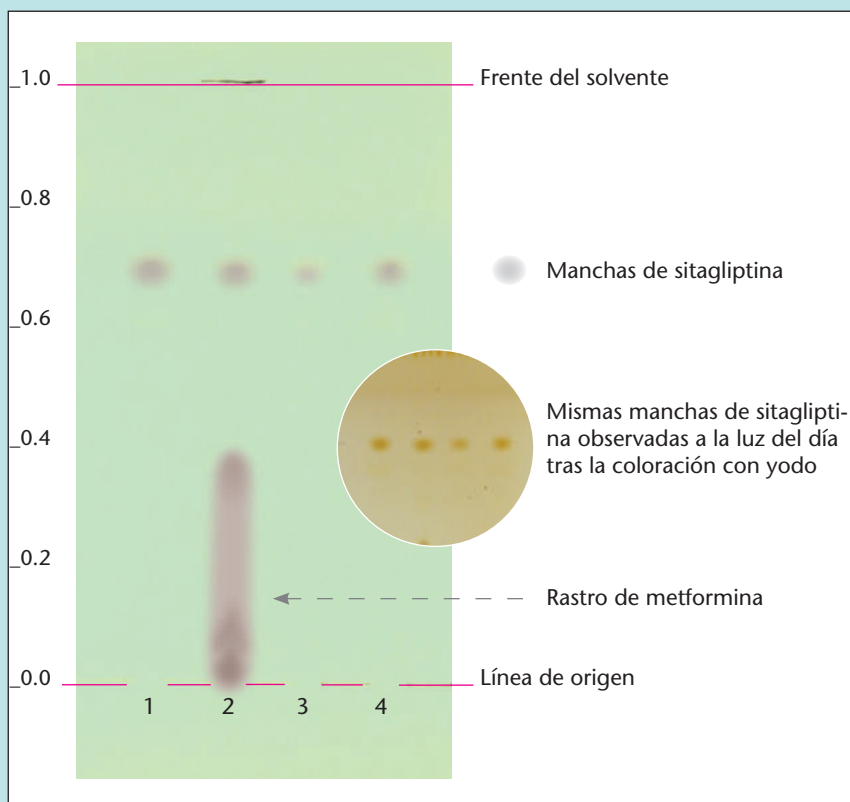
Una combinación de metformina de dosis
fija de buena calidad con un contenido
aceptable de sitagliptina

Recorrido No. 3:

Monofármaco de calidad deficiente con
contenido inaceptable bajo en sitagliptina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando
80% de contenido de sitagliptina



manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de sitagliptina, 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 indicar un contenido pobre de sitagliptina y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de sitagliptina. Los excipientes presentes en varios productos acabados pueden causar manchas nulas o tenues que migran hasta el frente del disolvente o permanecen cerca o en la línea de origen.

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

Al exponer la placa cromatográfica al vapor de yodo, todas las manchas de sitagliptina ya observadas a 254 nm adquieren ahora un color marrón amarillento. Siga observando la placa cuando se evapore el yodo. Las manchas que reflejan productos de mala calidad desaparecerán primero gradualmente seguidas por las manchas de referencia que representan un contenido de fármaco del 80 y 100 por ciento, respectivamente.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de sitagliptina 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. A efectos de documentación, tome fotos de todas las lecturas con una cámara digital o un smartphone.

7.119 Vildagliptina incl. combinaciones con metformina, y afines linagliptina y sildagliptina

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

Durante la inspección visual, busque las deficiencias en el etiquetado, el envasado y las formas de dosificación, tal como se indica en los capítulos introductorios del manual principal, e informe de los resultados. Considere la posibilidad de hacer fotografías, por ejemplo, con la cámara de un teléfono inteligente. Cada comprimido suele contener 50 mg de vildagliptina por base libre. La vildagliptina puede combinarse con metformina añadiendo 850 ó 1000 mg de sal de

clorhidrato de metformina a la formulación del comprimido o cápsula. Se sabe que existen otras 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 vildagliptina de liberación rápida también deben pasar el ensayo de desintegración descrita al principio del manual principal. Deberán desintegrarse en agua a 37 °C en menos de 30 minutos. Si un fármaco de liberación rápida no pasa el ensayo, es una deficiencia importante.

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 los medicamentos conservados en malas condiciones deberán ser sometidos a un ensayo cromatográfico en capa fina.

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

I. PRINCIPIO

Combinado o no con metformina, la vildagliptina se extrae de los comprimidos o cápsulas con un volumen conocido de acetona y posteriormente se comprueba su identidad y contenido mediante cromatografía en capa fina (CCF) en comparación con un agente de referencia adecuado. Sin embargo, con algunas formulaciones se producen problemas de matriz, especialmente cuando contienen hidroxipropilcelulosa. Este y otros polímeros pueden anular el ensayo. Para una comprobación rápida de la calidad de la metformina, consulte el protocolo correspondiente.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|--|
| 1) Mano de mortero | 14) Plancha de calefacción |
| 2) Papel aluminio | 15) Papel de filtro |
| 3) Embudo | 16) Tijeras |
| 4) Espátula | 17) Pinza |
| 5) Cinta adhesiva | 18) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 6) Rotulador | 19) Luz ultravioleta de 366 nm |
| 7) Lápiz y regla | 20) Cámara de manchado con yodo |
| 8) Viales de 10 ml | 21) Acetona |
| 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 22) Tolueno |
| 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 23) Metanol |
| 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 24) Butan-1-ol |
| 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad | 25) Acetato de etilo |
| 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) | 26) Solución de amoníaco al 25% |
| | 27) Solución de ácido acético al 96% |
| | 28) Solución de ácido sulfúrico al 96% |
| | 29) Agua destilada/grifo/embotellada |
| | 30) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de vildagliptina de 50 mg |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como agente de referencia, por ejemplo, comprimidos que contengan 50 mg de vildagliptina. Se envuelve el comprimido usada como referencia en papel aluminio y se reduce a polvo fino usando la mano de mortero. Vaciar cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y enjuagar todas las cantidades de polvo restantes con 5 ml de acetona usando una pipeta graduada. Cerrar el frasco de laboratorio y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva 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 de vildagliptina total por

ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de vildagliptina*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. Se continúa trabajando con el líquido claro o turbio obtenido.

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

La solución madre del estándar no requiere de dilución posterior, ya presenta la concentración final de trabajo de 10 mg de vildagliptina total por ml. Para una manipulación más cómoda, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un nuevo vial de 10 ml.

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

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

Pipetear 2 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 0,5 ml de acetona utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 8 mg de vildagliptina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de vildagliptina al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de vildagliptina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de vildagliptina representa el límite inferior aceptable para un producto dado. Los límites de la farmacopea no se aplican en nuestro contexto.

VI. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DE LA MUESTRA A PARTIR DE UN PRODUCTO QUE DICE CONTENER 50 MG DE VILDAGLIPTINA POR UNIDAD

Tomar un comprimido entero o una cápsula de un medicamento adecuado muestreado en el campo. Como es habitual, los comprimidos se envuelven en papel de aluminio y se trituran hasta obtener un polvo fino. Transfiera todo el polvo obtenido a un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml. El polvo obtenido de las cápsulas de muestra debe colocarse directamente en el frasco añadiendo en último lugar los tapones vacíos y las carcasas del cuerpo. Para la extracción, añada 5 ml de acetona utilizando una pipeta graduada adecuada. A continuación, cerrar el frasco y agitar durante unos tres minutos hasta que se disuelva la mayor parte de los sólidos. Dejar reposar la solución durante otros cinco minutos hasta que los residuos no disueltos se asienten bajo el líquido sobrenadante.

Combinado o no con metformina, todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 10 mg de vildagliptina total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de vildagliptina*'. Estas soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Siga trabajando con los líquidos sobrenadantes claros o turbios.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Las soluciones madre de la muestra no requieren dilución adicional, puesto que ya representan la concentración de trabajo final de 10 mg de vildagliptina por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de vildagliptina de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de vildagliptina de la solución estándar de trabajo superior elaborada arriba. Para facilitar la manipulación, parte del líquido sobrenadante puede transferirse a un vial de 10 ml.

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 la página siguiente, utilizando las pipetas microcapilares suministradas.

Pueden colocarse hasta cinco manchas en una placa. Comprobar la uniformidad de todas las manchas utilizando luz UV de 254 nm. Todas las manchas deben tener forma circular y estar igualmente espaciadas a lo largo de la línea de origen. Aunque sus intensidades pueden diferir, sus diámetros nunca deberían hacerlo. Las diferentes intensidades se deben a cantidades residuales de excipientes o a diferentes principios activos y concentraciones de fármacos en las soluciones de la muestra. Una diferencia en el tamaño de las manchas se debe a una mala siembra de las muestras. Repita este paso si no se consigue una siembra homogénea de las muestras la primera vez.

Seque las manchas. Para ello, coloque la placa cromatográfica sobre la placa calefactora caliente durante unos 15 segundos.

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

Fase móvil «A» para la cuantificación de vildagliptina: Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 11 ml de acetato de etilo, 7 ml de metanol, 1 ml de tolueno y 1 ml de solución de amoníaco al 25% al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Cerrar la cuba y mezclar bien. Forrar la pared de la cuba con papel de filtro y esperar unos 15 minutos, asegurando así la saturación de la cuba con vapor de disolvente. Colocar con cuidado la placa de CCF cargada en el frasco. Cerrar el frasco y desarrollar la placa hasta que el frente del disolvente se haya desplazado unas tres cuartas partes de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 15 minutos. Retire la placa CCF de la cuba, marque el frente de disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore por secado suave. Para ello, mantenga la cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante unos dos minutos. Agitar constantemente la placa de CCF y, cada vez que la cromatoplaque se desplace hacia abajo, dejar que su lado inferior toque la superficie de la placa calefactora durante fracciones de segundo.

Fase móvil «B» para la separación de vildagliptina, linagliptina y sitagliptina tras su extracción con metanol (VIL 10 mg/ml, LIN 1,25 mg/ml, SIT 5 mg/ml): Añadir 12 ml de butan-1-ol, 3 ml de metanol, 3 ml de agua y 3 ml de solución de ácido acético al 96% al frasco que sirve de cuba cromatográfica y mezclar. Esperar 15 minutos para la saturación de la cuba. A continuación, coloque la placa de CCF cargada en el frasco, ciérrelo y revele la placa cromatográfica durante unos 40 minutos. Retire la placa de CCF de la cuba, marque el frente del disolvente y seque cuidadosamente la placa en la corriente de aire caliente sobre la placa calefactora durante unos dos minutos.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Después de secar todos los residuos de disolvente, ver la placa de cromatografía bajo luz ultravioleta a 254 nm con la lámpara accionada por batería suministrada. Para la identificación y cuantificación inicial de vildagliptina, manchar la placa con yodo y observar a la luz del día y nuevamente bajo luz UV a 254 nm.

Manchar también la placa de yodo con ácido sulfúrico y calentar y observar la placa obtenida bajo luz UV a 366 nm. Para ello, llene el vaso de plástico de 250 ml suministrado con 190 ml de metanol, seguidos de 10 ml de solución de ácido sulfúrico al 96%, y mezcle bien. Dejar enfriar la mezcla y sumergir la placa cromatográfica en la solución de coloración empezando por la parte inferior, asegurándose por inmersión profunda de que se captura la mancha de vildagliptina de la parte superior de la placa cromatográfica. Retirar inmediatamente la placa de la solución y dejar escurrir el exceso de líquido sobre una toalla de papel. Limpie el líquido restante de la parte posterior de la placa y seque toda la solución de coloración durante aproximadamente 30 a 60 segundos a temperatura máxima en la placa caliente suministrada. Después de retirar la placa cromatográfica de la placa calefactora, observar la placa manchada a la luz UV de 366 nm.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM ANTES EL MANCHADO CON YODO

Si la placa de CCF es de la fase móvil «A», no deben verse manchas. La vildagliptina no es detectable a 254 nm y cuando se combina con clorhidrato de metformina, la metformina se elimina del sistema utilizando acetona para la extracción, en la que el HCl de metformina no es soluble. Cualquier metformina residual permanecería en la línea de origen. Sin embargo, el uso de la fase móvil «B» para separar las gliptinas revela una mancha fuerte para la linagliptina y una mancha más débil para la sitagliptina.

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

Cuando el cromatoplaque de la fase móvil «A» se expone a vapor de yodo, todas las manchas de vildagliptina se vuelven de color marrón amarillento y se hacen visibles a una distancia de aproximadamente 0,59. Las manchas de vildagliptina de las formulaciones que contienen sílice muy dispersa migran muy ligeramente menos. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de vildagliptina, 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 indicar un contenido pobre de vildagliptina y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de vildagliptina. Los excipientes presentes en varios productos acabados pueden causar manchas nulas o tenues que migran hasta el frente del disolvente o permanecen cerca o

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 vildagliptina

Recorrido No. 2:

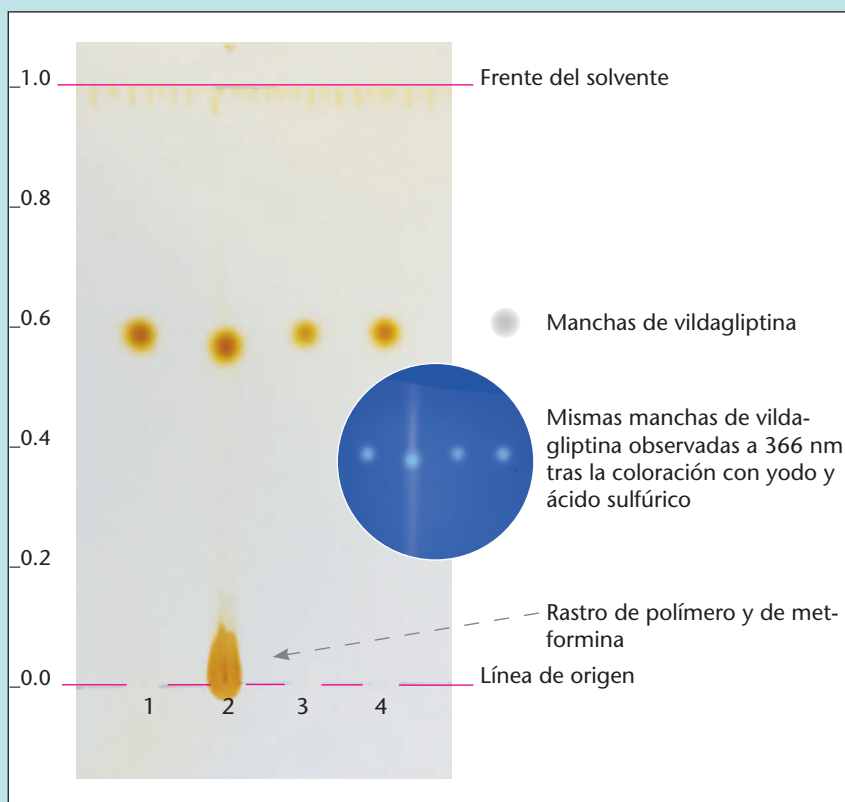
Una combinación de metformina de dosis fija de buena calidad con un contenido aceptable de vildagliptina y polímero de povidona, y sílice en la matriz

Recorrido No. 3:

Monofármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en vildagliptina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de vildagliptina



en la línea de origen. Los polímeros pueden provocar rastros completas desde el origen hasta la primera línea en lugar de manchas. Ahora, la vildagliptina también es visible en la placa de CCF a partir de la separación de las gliptinas, esta vez junto a la linagliptina. La coloración de la sitagliptina es sólo débil o nada pronunciada.

XIII. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM TRAS EL MANCHADO CON YODO

Todas las manchas previamente manchadas con yodo se vuelven ahora muy oscuras. Esto también se aplica a la sitagliptina, de modo que por primera vez las tres gliptinas pueden observarse simultáneamente en la placa cromatográfica de la fase móvil «B». La vildagliptina tiene un valor de relación de frentes de aproximadamente 0,37, la linagliptina de aproximadamente 0,48 y la sitagliptina de aproximadamente 0,58.

XIV. OBSERVACIONES HECHAS A 366 NM TRAS EL MANCHADO CON YODO Y ÁCIDO SULFÚRICO

Con una coloración adicional de la placa de yodo con ácido sulfúrico y calor, todas las manchas de vildagliptina producen una fluorescencia blanca clara. La presencia de yodo y calor es importante. Al enfriarse, esta fluorescencia desaparece, pero puede reactivarse eventualmente calentando de nuevo la placa CCF. Los ensayos funcionan mejor y la interferencia de la matriz puede reducirse al mínimo si se prolonga el tiempo de reposo durante la preparación de la muestra para permitir que la mayoría de las partículas de sílice muy finas se hundan hasta el fondo del recipiente.

XV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de vildagliptina 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. A efectos de documentación, tome fotos de todas las lecturas con una cámara digital o un smartphone.

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

Este suplemento del Manual Minilab amplía la lista de medicamentos antidiabéticos orales a un
total de siete principios activos farmacéuticos, incluidas sus combinaciones a dosis fijas para tratar
trastornos diabéticos.

El inventario de métodos del Manual Minilab incluye ahora una colección de métodos
de ensayo para 119 principios activos farmacéuticos para la verificación
rápida de la calidad de una amplia gama de productos
farmacéuticos acabados.



Global Pharma Health Fund
www.gphf.org