

Manual

Para usuarios de GPHF-Minilab™

Ampliación
2025
en fármacos paliativos
en autocuidados incl.
vídeos tutoriales

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

Capítulo	Página
Salud y seguridad.....	3
Nuevos protocolos de ensayo del Minilab.....	4
7.120 Butilescopolamina <i>incl. soluciones inyectables</i>	4
7.121 Difenhidramina <i>clorhidrato</i>	8
7.122 Loperamida <i>clorhidrato incl. comprimidos bucodispersables</i>	12
7.123 Loratadina	16
7.124 Norfloxacino <i>incl. combinaciones con tinidazol</i>	20
7.125 Tinidazol <i>incl. combinaciones con norfloxacino y metronidazol afín</i>	24

Para una mejor comprensión, este suplemento contiene códigos de respuesta rápida (QR Codes) que permiten acceder a vídeos tutoriales. Vea ejemplo a continuación.



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.

Primer cribado de las deficiencias del producto mediante ensayos físicos

I. ENSAYOS FÍSICOS

El butilbromuro de hioscina también se conoce como butilbromuro de escopolamina o butilescopolamina. Ambos nombres son intercambiables. 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 mg de butilescopolamina y cada producto inyectable suele contener

20 mg de butilescopolamina por ml de solución. Se sabe que existen combinaciones con paracetamol. Verifique el peso total de los comprimidos utilizando la balanza electrónica de bolsillo suministrada. Todas las formulaciones de comprimidos de butilescopolamina 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. Se exceptúan los comprimidos recubiertos de azúcar.

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 butilescopolamina se extrae de los comprimidos o cápsulas con una cantidad conocida de metanol y, a continuación, se comprueba la identidad y el contenido del catión butilescopolamina disuelto mediante cromatografía en capa fina (CCF) en comparación con 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) Cámara de manchado con yodo
- 20) Acetona
- 21) Metanol
- 22) Acetato de etilo
- 23) Cloruro de sodio
- 24) Amoníaco en solución al 25%
- 25) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de butilescopolamina de 10 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 10 mg de butilescopolamina. Se envuelve dos comprimidos usada como referencia en papel aluminio y tritúralas con un mortero hasta obtener un polvo fino. 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 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 4 mg de butilescopolamina total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de butilescopolamina*'. 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 4 mg de butilescopolamina 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 butilescopolamina.

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 3.2 mg de butilescopolamina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de butilescopolamina al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de butilescopolamina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de butilescopolamina 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 10 MG DE BUTILESCOPOLAMINA POR UNIDAD

Tomar un comprimido entero 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 ml. Para la extracción, añada 2.5 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.

DE SOLUCIONES INYECTABLES QUE DICE CONTENER 20 MG DE BUTILESCOPOLAMINA POR ML

Abrir una ampolla y decantar su contenido en un vial de vidrio de laboratorio de 10 ml. Con una pipeta graduada, transfiera 0.5 ml del líquido obtenido a un segundo vial y añada 2.0 ml de metanol. Esta será la solución madre de la muestra, que deberá ser transparente e incolora.

Todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 4 mg de butilescopolamina total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de butilescopolamina*'. 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 4 mg de butilescopolamina por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de butilescopolamina de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de butilescopolamina 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 concentraciones o combinaciones 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 7 ml de metanol, 7 ml de acetato de etilo, 7 ml de acetona y 3.5 ml de amoníaco en solución al 25% al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Por último, añadir 1 g de sal de cloruro sódico, cerrar la cámara y mezclar bien. La mayor parte de la sal permanece insoluble. 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 18 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 identificar y cuantificar la butilescopolamina, colorear la placa de cromatografía fresca con yodo y observarla primero a la luz del día y después de nuevo bajo luz ultravioleta a 254 nm.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Si está presente, la butilescopolamina es apenas detectable. Si no se combina con otros medicamentos, no deben aparecer otras manchas importantes al analizar la solución de ensayo.

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

Al exponer la placa cromatográfica al vapor de yodo, todas las manchas que representan la butilescopolamina adquieren ahora un color marrón amarillento y se hacen visibles a una distancia de recorrido de 0.40 aproximadamente. 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 agente activo del 80 y 100 por ciento, respectivamente.

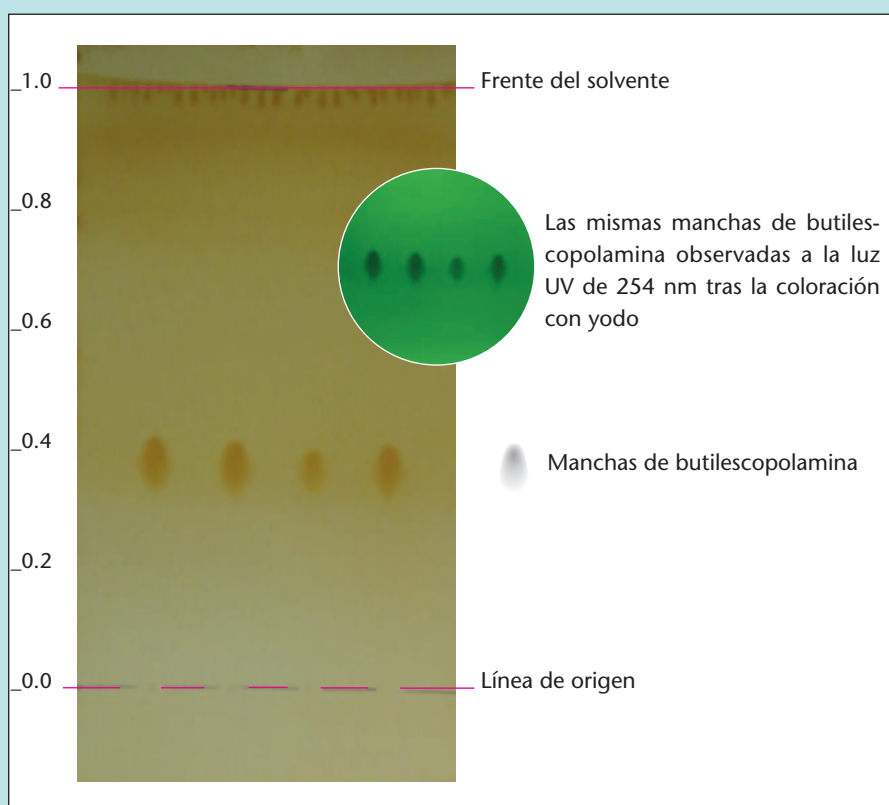
PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON YODO

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

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

Recorrido No. 3:
Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en butilescopolamina

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



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

Todas las manchas de butilescopolamina observadas anteriormente, a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.40 durante la coloración con yodo, son ahora aún más intensas. Otras manchas intensas generadas por la solución de ensayo apuntan a otros fármacos o a la degradación de la butilescopolamina, 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 butilescopolamina y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de butilescopolamina. 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. El azúcar de los comprimidos recubiertos de azúcar es visible a una distancia de recorrido inferior a 0.1 cuando se ha manchado la placa con una solución metanólica de ácido sulfúrico.

XIV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de butilescopolamina 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.

7.121 Difenhidramina clorhidrato

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 25 ó 50 mg de clorhidrato de difenhidramina. Se sabe que existen otras dosis y combinaciones con paracetamol. Ve-

rifique 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 difenhidramina 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

El clorhidrato de difenhidramina 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 | 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) Cámara de manchado con yodo |
| 7) Lápiz y regla | 20) Vaso de plástico (250 ml) |
| 8) Viales de 10 ml | 21) Ninhidrina |
| 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 22) Metanol |
| 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 23) Tolueno |
| 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 24) Acetato de etilo |
| 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad | 25) Amoníaco en solución al 25% |
| 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) | 26) Solución de ácido sulfúrico al 96% |
| | 27) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de clorhidrato de difenhidramina 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 clorhidrato de difenhidramina. 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 clorhidrato de difenhidramina total por ml y se debe rotular 'Solución madre del estándar de difenhidramina'. 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 2 ml de la solución madre del estándar en un vial de 10 ml y añadir 2 ml de metanol. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 2.5 mg de clorhidrato de difenhidramina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de difenhidramina al 100%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un fármaco de buena calidad con un contenido de 100% de clorhidrato de difenhidramina. Encontrará más información sobre el pipeteado en el vídeo mediante el código QR que se proporciona aquí.

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 3 ml de metanol utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 2 mg de clorhidrato de difenhidramina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de difenhidramina al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de difenhidramina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de difenhidramina 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 CLORHIDRATO DE DIFENHIDRAMINA POR UNIDAD

50 MG DE CLORHIDRATO DE DIFENHIDRAMINA 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 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.

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 el clorhidrato de difenhidramina. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

Todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 5 mg de clorhidrato de difenhidramina total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de difenhidramina*'. Estas soluciones se preparan frescas para cada ensayo. Siga trabajando con los líquidos sobrenadantes claros o turbios. Encontrará más información sobre la preparación de muestras en el vídeo mediante el código QR que se facilita aquí.

VII. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO DE LA MUESTRA

Pipetear 2 ml de la solución madre de la muestra a un vial de 10 ml y añadir 2 ml de metanol. Cerrar y agitar el vial; etiquetarlo como '*Solución de trabajo de la muestra de difenhidramina*'. La concentración esperada de clorhidrato de difenhidramina en la solución de trabajo de la muestra es de 2.5 mg por ml. Debería corresponderse con la concentración de clorhidrato de difenhidramina 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 concentraciones o combinaciones 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 10 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 metanol, 5 ml de acetato de etilo, 5 ml de tolueno y 1 ml de amoníaco en solución 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. Encontrará más información sobre el proceso de secado en el vídeo mediante el código QR que se facilita aquí.



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 difenhidramina, manchar la placa cromatográfica fresca con yodo y observar la placa a la luz del día y de nuevo bajo luz UV de 254 nm. Tras la evaporación del yodo, manchar la placa con una solución metanólica de ácido sulfúrico y secar sobre la placa caliente. Utilizando una segunda placa cromatográfica recién desarrollado, la coloración con ácido sulfúrico puede sustituirse por la coloración con ninhidrina.

Para la coloración con ácido sulfúrico, 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 mézclelo bien. Una vez enfriada la mezcla, sumerja la placa cromatográfica por la parte superior y retírela inmediatamente. Deje escurrir el exceso de líquido sobre una toalla de papel, limpie la parte posterior de la placa y séquela sobre la placa caliente a máxima temperatura durante 30 a 60 segundos. Después del secado, observe la placa coloreada a la luz del día.

Para la coloración con ninhidrina, disolver 3 g de ninhidrina en 150 ml de metanol y 30 ml de ácido acético al 96% en el vaso de precipitados de 250 ml suministrado. Sumerja primero la placa cromatográfica por la parte superior con ayuda de unas pinzas, retírela inmediatamente y deje que el exceso de líquido gotee sobre una toalla de papel. Transcurrido un minuto, limpie la parte posterior de la placa y séquela en la placa caliente a máxima potencia. Las manchas de difenhidramina aparecerán a la luz del día casi al instante. Consulte la página 36 del manual principal para la coloración con ninhidrina. Nota: La ninhidrina puede manchar la piel, pero las manchas moradas desaparecerán en 1 ó 2 días y no son perjudiciales. Encontrará más información sobre los procesos de detección en el vídeo mediante el código QR que se facilita aquí.



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

Las débiles manchas de difenhidramina observadas anteriormente a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.77 sin coloración con yodo se están volviendo ahora muy fuertes. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de difenhidramina, siendo este último caso más probable cuando se asocia a una mancha principal más pequeña. Una mancha principal más pequeña de la solución

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

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de difenhidramina

Recorrido No. 2:

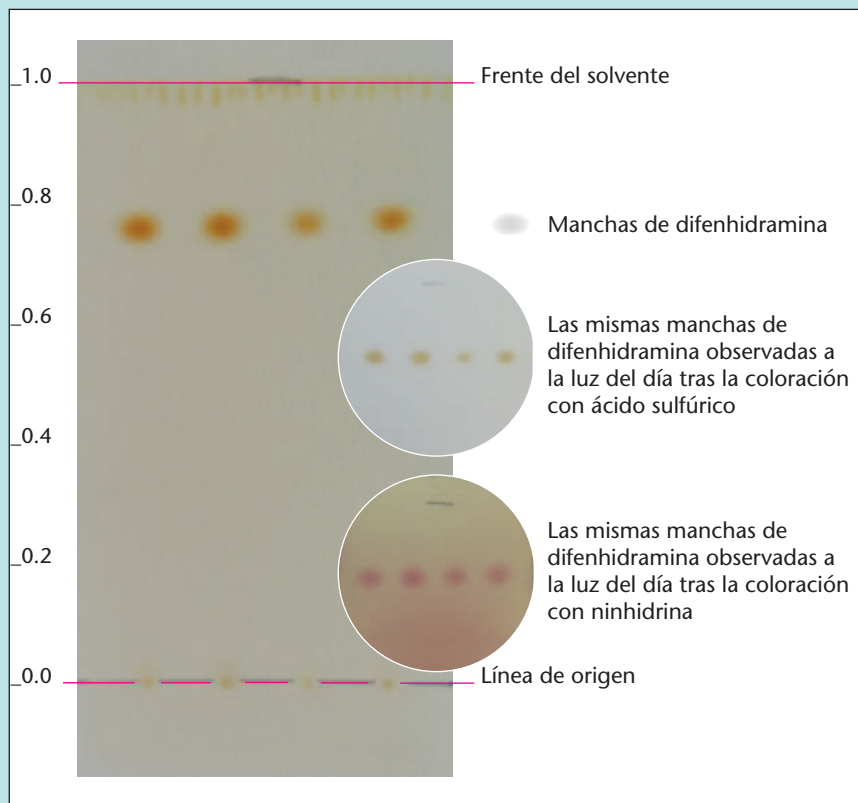
Fármaco de buena calidad con contenido aceptable en difenhidramina

Recorrido No. 3:

Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en difenhidramina

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de difenhidramina



de ensayo también puede indicar un contenido pobre de difenhidramina y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de difenhidramina. 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

Al exponer la placa cromatográfica al vapor de yodo, todas las manchas de difenhidramina 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 droga del 80 y 100 por ciento, respectivamente.

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

Cuando todo el yodo se ha evaporado y la placa cromatográfica se ha manchado con ácido sulfúrico, todas las manchas de difenhidramina se vuelven de color gris amarillento y visibles a la luz del día. Las lecturas semicuantitativas son muy buenas en este caso.

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

Cuando todo el yodo se ha evaporado y la placa cromatográfica se ha manchado con ninhidrina, todas las manchas de difenhidramina adquieren un color rojo rosado y se hacen visibles a la luz del día. Las lecturas semicuantitativas pueden convertirse aquí en un reto.

XV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de difenhidramina 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.

7.122 Loperamida clorhidrato incl. comprimidos bucodispersables

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 clásico, comprimido bucodispersable o cápsula contiene generalmente 2 mg de clorhidrato de loperamida. 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 loperamida 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

El clorhidrato de loperamida 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) Cámara de manchado con yodo
- 20) Metanol
- 21) Acetato de etilo
- 22) Amoníaco en solución al 25%
- 23) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de clorhidrato de loperamida de 2 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 2 mg de clorhidrato de loperamida. Envuelve dos comprimidos de referencia en papel de aluminio y tritúralas con un mortero hasta convertirlas en polvo fino. Vaciar cuidadosamente el contenido del papel aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 10 ml y enjuagar todas las cantidades de polvo restantes con 4 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 1 mg de clorhidrato de loperamida total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de loperamida*'. 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 1 mg de clorhidrato de loperamida 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 clorhidrato de loperamida.

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 0.25 ml de metanol utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 0.8 mg de clorhidrato de loperamida total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de loperamida al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de loperamida de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de loperamida 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 2 MG DE CLORHIDRATO DE LOPERAMIDA 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 10 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.

Todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 1 mg de clorhidrato de loperamida total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de loperamida*'. 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 1 mg de clorhidrato de loperamida por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de loperamida de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de loperamida 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 concentraciones de fármaco 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.

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 17 ml de acetato de etilo, 2 ml de metanol y 0.5 ml de amoníaco en solución 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.

**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 identificar y cuantificar la loperamida, colorear la placa de cromatografía fresca con yodo y observarla primero a la luz del día y después de nuevo bajo luz ultravioleta a 254 nm.

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

Cuando la placa cromatográfica se expone al vapor de yodo, las manchas muy tenues de loperamida que se hayan podido observar previamente a 254 nm a una distancia de aproximadamente 0.64 se volverán de 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 droga del 80 y 100 por ciento, respectivamente.

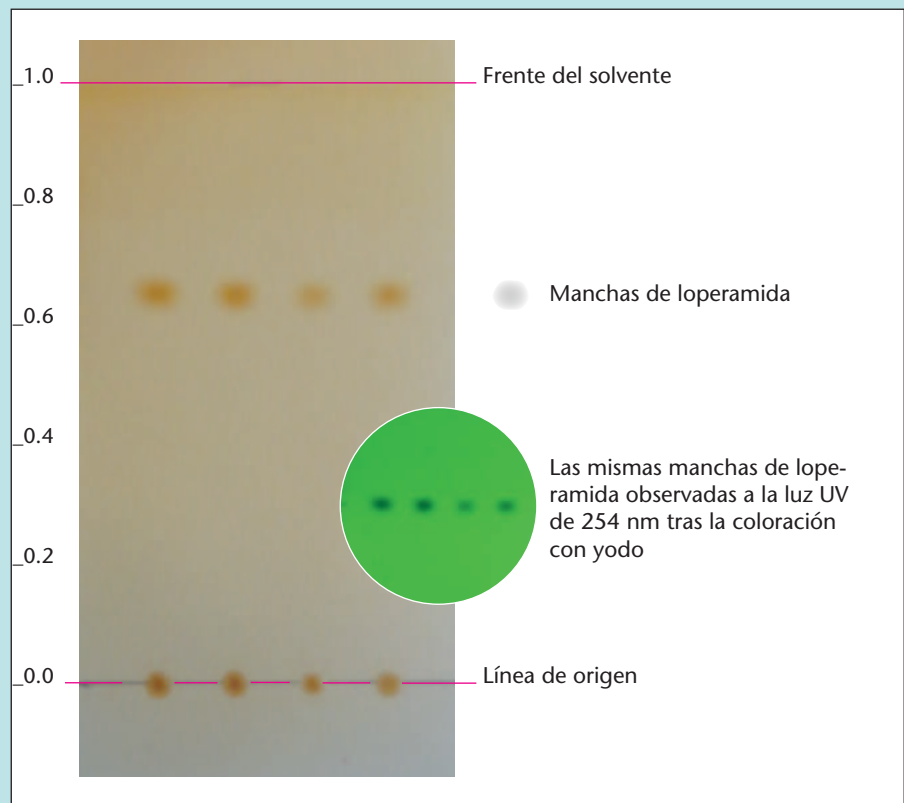
PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA A LA LUZ DEL DÍA TRAS EL MANCHADO CON YODO

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

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

Recorrido No. 3:
Fármaco de calidad deficiente con contenido inaceptable bajo en loperamida

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



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

Todas las manchas débiles de loperamida observadas anteriormente a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.64 sin manchado con yodo se vuelven ahora muy fuertes. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de loperamida, 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 loperamida y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de loperamida. 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.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de loperamida 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.

7.123 Loratadina

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 contiene normalmente 10 mg de loratadina por base libre. 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 loratadina 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 loratadina 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) Cámara de manchado con yodo
- 20) Metanol
- 21) Acetato de etilo
- 22) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de loratadina de 10 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 10 mg de loratadina. 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 8 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 1.25 mg de loratadina total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de loratadina*'. 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 1.25 mg de loratadina 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 loratadina.

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 1 mg de loratadina total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de loratadina al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de loratadina de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de loratadina 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 10 MG DE LORATADINA 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 carcasas del cuerpo. Para la extracción, añada 8 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.

Todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 1.25 mg de loratadina total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de loratadina*'. 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 1.25 mg de loratadina por ml. Si han sido preparadas a partir de fármacos de buena calidad, las concentraciones de loratadina de estas soluciones deberán corresponder a la concentración de loratadina 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 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 y 10 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 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 cromatoplaque con la pinza suministrada en la corriente de aire caliente directamente encima de la placa calefactora durante aproximadamente un minuto. 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 loratadina, manchar la placa cromatográfica fresca con yodo en la cámara de yodo y los ensayos se leen a la luz del día.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha oscura a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.71 indica la presencia de loratadina en la solución de ensayo. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de loratadina, 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 loratadina y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de loratadina. 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.

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO
LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando
100% de contenido de loratadina

Recorrido No. 2:

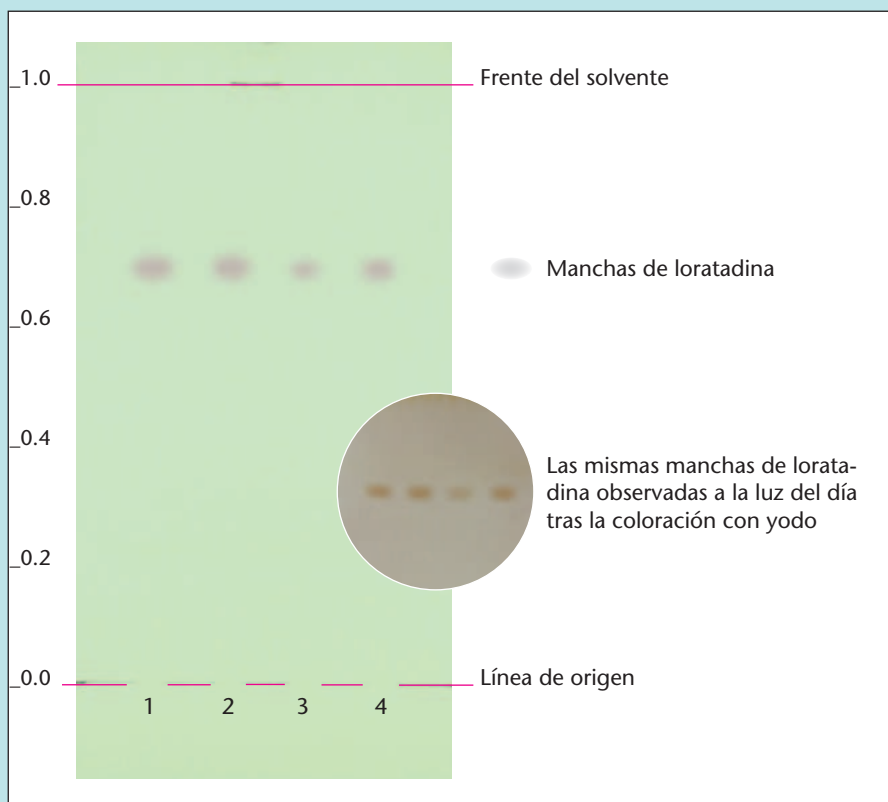
Fármaco de buena calidad con contenido
aceptable en loratadina

Recorrido No. 3:

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

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando
80% de contenido de loratadina



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

Al exponer la placa cromatográfica al vapor de yodo, todas las manchas de loratadina ya observadas a 254 nm adquieren ahora un color marrón amarillento. Las manchas de loratadina coloreadas con yodo se desvanecen rápidamente. 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 droga del 80 y 100 por ciento, respectivamente.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de loratadina 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 contiene normalmente 400 mg de norfloxacinol por base libre. Se sabe que existen otras dosis y combinaciones con tinidazol. 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 norfloxacinol 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 tinidazol, el norfloxacinol se extrae de los comprimidos o cápsulas con un volumen conocido de metanol acidificado y, a continuación, se comprueba su identidad y contenido mediante cromatografía en capa fina (CCF) frente a un agente de referencia adecuado. Para comprobar rápidamente la calidad del tinidazol, consulte el protocolo correspondiente.

II. EQUIPOS Y REACTIVOS

- | | |
|--|---|
| 1) Mano de mortero | 15) Papel de filtro |
| 2) Papel aluminio | 16) Tijeras |
| 3) Embudo | 17) Pinza |
| 4) Espátula | 18) Luz ultravioleta de 254 nm |
| 5) Cinta adhesiva | 19) Luz ultravioleta de 366 nm |
| 6) Rotulador | 20) Cámara de manchado con yodo |
| 7) Lápiz y regla | 21) Vaso de plástico (250 ml) |
| 8) Viales de 10 ml | 22) Ninhidrina |
| 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 23) Tolueno |
| 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 24) Acetona |
| 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 25) Metanol |
| 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad | 26) n-Butanol |
| 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) | 27) Amoníaco en solución al 25% |
| 14) Plancha de calefacción | 28) Solución de ácido acético 96% |
| | 29) Agente de referencia, p. ej. comprimidos de norfloxacinol de 400 mg |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere de un producto auténtico usado como agente de referencia, por ejemplo, comprimidos que contengan 400 mg de norfloxacinol. 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 de aluminio en un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y enjuagar todos los sólidos residuales comenzando con 8 ml de solución de ácido acético al 96% y siguiendo con 12 ml de metanol utilizando pipetas graduadas adecuadas. 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 norfloxacin total por ml y se debe rotular '*Solución madre del estándar de norfloxacin*'. 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 norfloxacin total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de norfloxacin al 100%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un fármaco de buena calidad con un contenido de 100% de norfloxacin por base libre.

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 norfloxacin total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de norfloxacin al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de norfloxacin de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de norfloxacin 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 400 MG DE NORFLOXACINO 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 taponeros vacíos y las carcasas del cuerpo. Para la extracción, añadir 8 ml de solución de ácido acético al 96% seguida de 12 ml de metanol utilizando pipetas graduadas adecuadas. 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 tinidazol, todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 20 mg de norfloxacin total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de norfloxacin*'. 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 norfloxacin*'. La concentración esperada de norfloxacin en la solución de trabajo de la muestra es de 1 mg por ml. Debería corresponderse con la concentración de norfloxacin 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 concentraciones o combinaciones 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.

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

IX. DESARROLLO DEL CROMATOGRAMA

A) Fase móvil para monopreparados de norfloxacino y combinaciones de dosis fijas de norfloxacino/tinidazol: Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 16 ml de n-butanol, 2 ml de metanol y 7 ml de amoníaco en solución 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 de disolvente se haya desplazado aproximadamente la mitad de la longitud de la placa, siendo el tiempo de desarrollo de unos 30 minutos. Retire la placa de TLC de la cuba, marque el frente de disolvente y deje que el exceso de disolvente se evapore secando la placa de TLC sobre una placa calefactora caliente durante un minuto aproximadamente.

B) Fase móvil para la identificación de norfloxacino junto a otras quinolonas, por ejemplo ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino: Utilizando pipetas graduadas adecuadas, añada 10 ml de metanol, 5 ml de acetona, 2.5 ml de tolueno y 5 ml de amoníaco en solución al 25% al frasco que se utilizará como cuba cromatográfica. Cargar la placa cromatográfica con soluciones de extracción de varias quinolonas preparadas según los protocolos correspondientes del manual principal. A continuación, desarrollar la placa como se ha descrito anteriormente con un tiempo de desarrollo de unos 20 minutos, cuando la fase móvil recorre aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de CCF de la cámara, marcar el frente de disolvente y dejar que se evapore el exceso de disolvente secando la placa de CCF sobre una placa calefactora caliente durante aproximadamente un minuto. Si la placa de CCF se seca demasiado poco o no se seca en absoluto, no se eliminan todos los residuos de disolvente, de modo que el fondo de la placa de CCF se colorea y, además, durante la tinción posterior con ninhidrina sólo se producen manchas de quinolona de color pálido.

X. DETECCIÓN DE LOS AGENTES ACTIVOS

Después de secar los restos de disolvente, visualice las placas cromatográficas de las fases móviles «A» y «B» bajo luz UV a 254 y 366 nm utilizando las lámparas a pilas suministradas. Asegúrese de que el espacio de trabajo esté oscuro cuando utilice la lámpara UV de 366 nm. Para una mayor identificación del norfloxacino, colorante la placa fresca con yodo en la cámara de yodo, luego observarla a la luz del día y bajo luz UV de 254 nm.

Para distinguir mejor las fluorquinolonas, observe la placa de norfloxacina de la fase móvil «B» primero bajo luz ultravioleta de 366 nm y después a la luz del día tras evaporar el yodo y colorante con ninhidrina.

Para la coloración, disolver 3 g de ninhidrina en 150 ml de metanol y 30 ml de ácido acético al 96% en el vaso de plástico de 250 ml suministrado. Sumerja la placa de cromatografía, primero la parte inferior, con ayuda de unas pinzas, retírela inmediatamente y deje escurrir el exceso de líquido sobre una toalla de papel. Transcurrido un minuto, limpie cualquier resto de líquido de la parte posterior de la placa y séquela en la placa caliente hasta que las manchas de quinolona se hagan visibles en diferentes colores. El proceso de mancha con ninhidrina se detalla en la página 36 del manual principal. Las manchas de ninhidrina en la piel son inofensivas y desaparecerán en uno o dos días.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Procedente de la fase móvil «A», una mancha azul intensa a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.37 indica la presencia de norfloxacino en la solución de ensayo. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación de norfloxacino, 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 norfloxacino y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de norfloxacino. Si se combina con tinidazol, aparece una segunda mancha alrededor de 0.77. 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.

Procedente de la fase móvil «B», una mancha azul estirada a una distancia de recorrido de aprox. 0.36 indica norfloxacino, mientras que el ciprofloxacino aparece a aprox. 0.44, el levofloxacino a aprox. 0.48, el moxifloxacino a aprox. 0.53 y el tinidazol se asienta cerca

PLACA CROMATOGRÁFICA DE LA FASE MÓVIL «A» VISTA BAJO LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando 100% de contenido de norfloxacino

Recorrido No. 2:

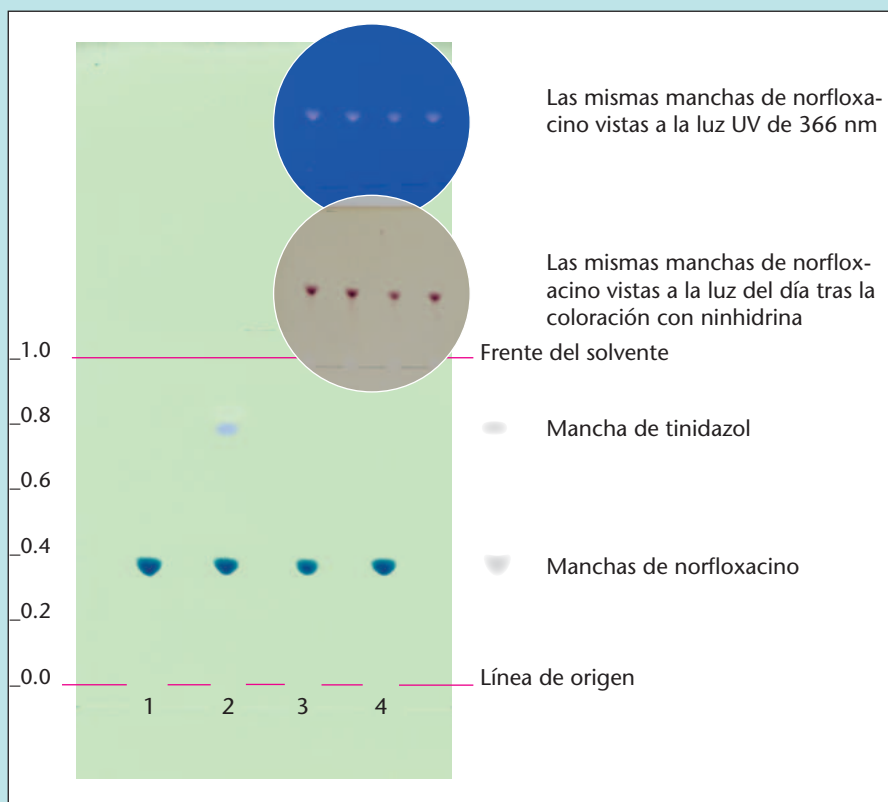
Una combinación de dosis fijas de tinidazol de buena calidad con un contenido aceptable de norfloxacino

Recorrido No. 3:

Un monopreparado de mala calidad con un bajo contenido inaceptable de norfloxacino

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando 80% de contenido de norfloxacino



del frente del disolvente. Estas distintas distancias de desplazamiento ayudan a diferenciar el norfloxacino de otras quinolonas.

XII. OBSERVACIONES HECHAS A 366 NM

Independientemente de su origen, fase móvil «A» o «B», todas las manchas de norfloxacino y de otras fluorquinolonas, por ejemplo, ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino presentan distintos tonos de fluorescencia blanca, siendo la de moxifloxacino la más brillante. Estos tonos ayudan a identificar el norfloxacino entre las quinolonas. Aunque el ácido acético del líquido de extracción distorsiona algunas manchas de quinolonas, la mancha de norfloxacino no se ve afectada.

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

Cuando se exponen a vapor de yodo, las placas cromatográficas de la fase móvil «A» o «B» muestran todas las manchas de norfloxacino y otras quinolonas observadas previamente a 254 nm y 366 nm volviéndose ahora marrones. El tinidazol puede hacerse visible, pero su rendimiento es deficiente.

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

A partir de la fase móvil «B», la coloración de la placa cromatográfica con ninhidrina revela diferentes colores para el norfloxacino y otras quinolonas, lo que ayuda a la identificación. Las manchas de moxifloxacino se vuelven azules, las de ciprofloxacino rojas, las de norfloxacino también rojas y las de levofloxacino permanecen incoloras e invisibles.

XV. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de norfloxacino 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 250, 300, 400, 500 ó 600 mg de tinidazol por base libre. Se sabe que existen otras dosis y combinaciones con norfloxacin. El tinidazol suele formar parte de los denominados «pylokits» para tratar las infecciones por *Helicobacter pylori* en el tratamiento de la enfermedad

por reflujo gastroesofágico (reflujo ácido gástrico, úlceras gástricas, acidez estomacal), por ejemplo el «pylokit» compuesto por tinidazol 500 mg, claritromicina 250 mg y lansoprazol 30 mg. Sin embargo, se trata de preparados compuestos de dosis única contenidos en un kit y no de preparados combinados de dosis fija. 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 tinidazol 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 norfloxacin, el tinidazol 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 (TLC) en comparación con un agente de referencia adecuado. Para una comprobación rápida de la calidad del norfloxacin, 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) Cámara de manchado con yodo |
| 7) Lápiz y regla | 20) Acetona |
| 8) Viales de 10 ml | 21) Metanol |
| 9) Juego de pipetas graduadas (1 a 25 ml) | 22) Acetato de etilo |
| 10) Juego de frascos de vidrio de laboratorio (25 a 100 ml) | 23) Amoníaco en solución al 25% |
| 11) Placas Merck CCF de aluminio con recubrimiento de gel de sílice 60 F ₂₅₄ tamaño 5 x 10 cm | 24) Balanza electrónica de bolsillo |
| 12) Microcapilares de vidrio de 2 µl de capacidad | 25) Agente de referencia, por ejemplo tinidazol como sustancia pura de fuentes comerciales |
| 13) Cuba cromatográfica (frasco de 500 ml) | |

III. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL ESTÁNDAR

La preparación de la solución madre del estándar requiere un agente para fines de referencia, por ejemplo tinidazol como sustancia pura de alta pureza cercana al 100% obtenida de fuentes comerciales. Utilizando la balanza electrónica de bolsillo suministrada, pesar correctamente unos 0.3 g de polvo puro de tinidazol sobre un trozo de papel de aluminio formado como barco de pesaje. Vaciar cuidadosamente el papel de aluminio sobre un frasco de vidrio de laboratorio de 25 ml y enjuagar todos los sólidos residuales con 15 ml de acetona utilizando una pipeta graduada. Ajuste la cantidad de acetona cuando el resultado de la pesada difiera



del peso objetivo. Para superar la inercia dinámica de la balanza y garantizar lecturas correctas, levante el barco de pesaje o golpee el plato de pesaje con un bolígrafo o una espátula cada vez que se hayan añadido o quitado unos miligramos más. Cerrar el frasco de laboratorio y agitar hasta que se disuelva todo el tinidazol. La solución obtenida debe contener 20 mg de tinidazol total por ml y etiquetarse como '*Solución madre del estándar de tinidazol*'. Para cada ensayo se preparará una nueva solución. La solución final obtenida no debe contener sólidos residuales observables. Encontrará más información sobre el uso de la balanza de bolsillo en el vídeo a través del código QR que se facilita aquí.

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 4 ml de acetona. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 4 mg de tinidazol total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de tinidazol al 100%*'.

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

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 25 ml y añadir 10.5 ml de acetona utilizando pipetas graduadas adecuadas. Cerrar y agitar el vial. La solución obtenida debe contener 3.2 mg de tinidazol total por ml y etiquetarse como '*Solución estándar de trabajo de tinidazol al 80%*'.

Esta solución estándar de trabajo representa un producto farmacológico de baja calidad y bajo contenido de tinidazol de solo 80% de lo indicado en la etiqueta del producto. En la investigación actual, este nivel de tinidazol 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 250 MG DE TINIDAZOL 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 carcacas del cuerpo. Para la extracción, añada 12.5 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.

300 MG DE TINIDAZOL 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 acetona con una pipeta graduada adecuada y extraer el tinidazol. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

400 MG DE TINIDAZOL 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 acetona con una pipeta graduada adecuada y extraer el tinidazol. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

500 MG DE TINIDAZOL 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 25 ml de acetona con una pipeta graduada adecuada y extraer el tinidazol. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

600 MG DE TINIDAZOL 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 acetona con una pipeta graduada adecuada y extraer el tinidazol. Continuar trabajando como se ha descrito anteriormente.

Combinadas o no con norfloxacin, todas las soluciones madre de muestra producidas deben contener finalmente 20 mg de tinidazol total por ml y ser etiquetadas como '*Solución madre de la muestra de tinidazol*'. 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 4 ml de acetona. Cerrar y agitar el vial; etiquetarlo como '*Solución de trabajo de la muestra de tinidazol*'. La concentración esperada de base libre de tinidazol en la solución de trabajo de la muestra es de 4 mg por ml. Debería corresponderse con la concentración de tinidazol 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 o combinaciones 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 10 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 15 ml de acetato de etilo, 5 ml de metanol y 0.5 ml de amoníaco en solución 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 14 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 del tinidazol, manchar la placa cromatográfica fresca con yodo en la cámara de yodo.

XI. OBSERVACIONES HECHAS A 254 NM

Una mancha oscura a una distancia de recorrido de aproximadamente 0.61 indica la presencia de tinidazol en la solución de ensayo. Otras manchas fuertes generadas por la solución de ensayo apuntarían a otros fármacos o a la degradación del tinidazol, 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

PLACA CROMATOGRÁFICA VISTA BAJO
LUZ ULTRAVIOLETA DE 254 NM

Recorrido No. 1:

Estándar superior de trabajo representando
100% de contenido de tinidazol

Recorrido No. 2:

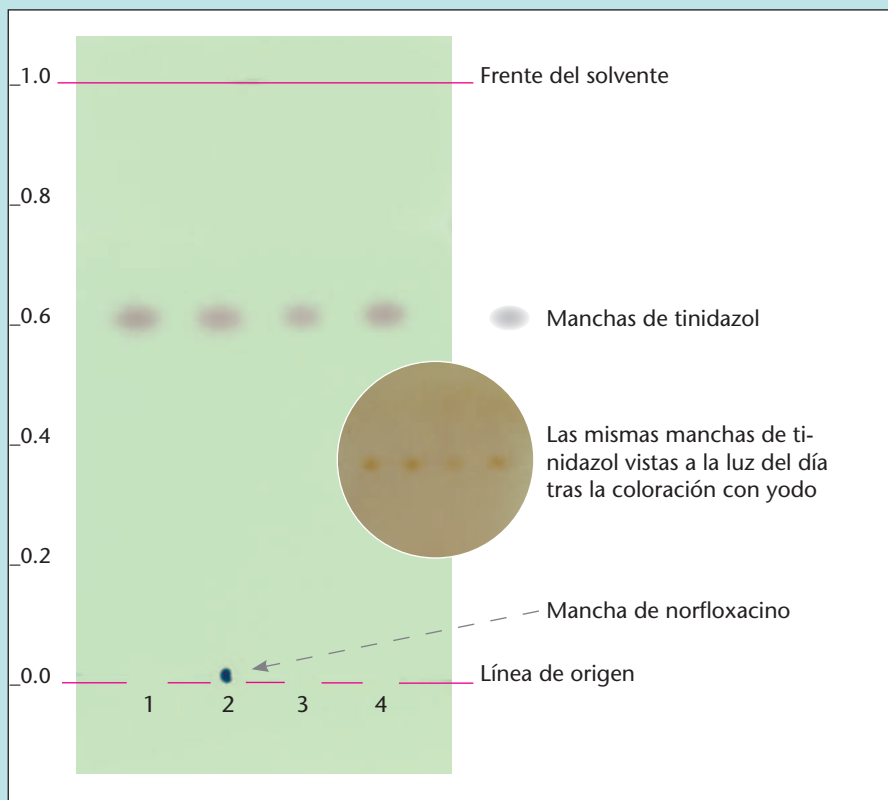
Una combinación de dosis fijas de norfloxa-
cino de buena calidad con un contenido
aceptable de tinidazol

Recorrido No. 3:

Un monopreparado de mala calidad con un
bajo contenido inaceptable de tinidazol

Recorrido No. 4:

Estándar inferior de trabajo representando
80% de contenido de tinidazol



pobre de tinidazol y una mancha ausente puede indicar una ausencia total de tinidazol. El metronidazol relacionado mostraría un factor de retención relativo de aproximadamente 0.51. Si el tinidazol se combina con el norfloxacino, ésta no se desplaza y se asienta en la línea de origen. 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

Al exponer la placa cromatográfica al vapor de yodo, todas las manchas de tinidazol 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 droga del 80 y 100 por ciento, respectivamente.

XIII. RESULTADOS Y MEDIDAS A TOMAR

La mancha de tinidazol 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 actual de 119 agentes activos a un total de 125 principios activos farmacéuticos, incluyendo ahora también los medicamentos paliativos de autocuidado.

A la lista final de 125 principios activos farmacéuticos para la verificación rápida de la calidad de una amplia gama de productos farmacéuticos acabados se añade un ensayo cromatográfica en capa fina para la comprobación sencilla y rápida de agentes anticongelantes, dietilenglicol y etilenglicol en jarabes y otras preparaciones líquidas de uso oral.



Global Pharma Health Fund
www.gphf.org