

03.63.11

C.N.E.A. Biblioteca	
ARCHIVO FARMACEUTICOS	
NO	AÑO
1	1963

PROGRAMA DE PRODUCCION

MANUAL DE CONTROLES FARMACEUTICOS

Nélida V. Recchi

Programa de Producción

Manual de Controles Farmacéuticos

Nélida V. Recchi

1 - Determinación de Pureza Radioquímica.

La determinación de la pureza radioquímica se realiza para establecer las formas químicas en que está presente el radionucleido y la proporción de las mismas en el preparado.

Dicho ensayo se lleva a cabo en todos los preparados medicinales de uso interno; para aquellas preparaciones destinadas a usos no medicinales, se investiga la pureza radioquímica cuando el usuario lo requiere.

Las cantidades máximas y el tipo de impurezas admitidas se consignan en cada caso.

De no cumplirse los requisitos de pureza establecidos, el laboratorio de Control Farmacéutico no autorizará la distribución del preparado.

2 - Técnicas generales

I: cromatografía ascendente

a) Cubas:

Los recipientes cilíndricos donde se realiza en forma rutinaria el desarrollo de los cromatogramas tienen las siguientes dimensiones:

C₁: 63 x 10 cm

C₂: 56 x 6 cm

C₃: 36 x 6 cm

Para el análisis cromatográfico de cada compuesto se indica el tipo de recipiente a utilizar. Los recipientes, de bordes planos y esmerilados, se tapan con una placa de vidrio, previo engrase de los bordes de la cuba con vaselina, a fin de garantizar su perfecto cierre.

b) Solventes:

Se utilizan reactivos pro analysi o purificados; de haber indicaciones especiales, se incluyen en la descripción del método. El solvente se coloca en la cuba hasta una altura de 2-3 cm. Es de importancia para un buen desarrollo del cromatograma que la cuba esté saturada con el vapor del solvente; con este fin conviene colocar el solvente en la cuba unos cuantos días antes de realizar el análisis. Durante el desarrollo del cromatograma se evitará, en lo posible, cambios bruscos de temperatura para evitar alteraciones del equilibrio entre la fase líquida y vapor del solvente.

c) Papel:

En cada caso se utiliza el papel de la marca y número indicado por la técnica.

El ancho del papel es de aproximadamente 3 cm y el largo de la tira el que corresponda al tipo de cuba utilizado.

El papel no debe tocarse con las manos.

d) Siembra :

A unos 2 (dos) centímetros del extremo inferior del papel se traza con lápiz una línea horizontal, línea de partida, en el centro de la cual se siembran 1 ó 2 gotas de la sustancia a analizar, mediante una pipeta Pasteur. Después de cada gota sembrada y antes de introducir el extremo del papel en el solvente, la mancha debe dejarse secar perfectamente.

e) Migración :

El extremo inferior de la tira de papel se sumerge unos 0,5 cm en el solvente, cuidando que el papel no toque las paredes de la cuba y que el solvente no moje la zona de siembra; se suspende la tira en el centro de la cuba con un soporte adecuado y se deja el tiempo necesario según la técnica seguida. Se asegura el cierre de la cuba y se evita, durante el tiempo de la migración, todo cambio brusco de temperatura.

Terminada la migración se retira el cromatograma de la cuba, se marca con lápiz el lugar alcanzado por el solvente, "frente del solvente" y se deja secar.

f) Revelado :

1º. Autorradiografía: en cuarto oscuro se coloca en una prensa el cromatograma sobre una película radiográfica del mismo tamaño envolviendo en papel negro el conjunto película - cromatograma. Se guarda al abrigo de la luz. El tiempo de exposición varía con la actividad sembrada y el tipo de película.

Películas rápidas: Kodak-Cristallex; Kodak Industrex D.

Películas lentas: Kodak-Industrex M.

Las películas se revelan y fijan con las técnicas comunes de fotografía.

El método de la autorradiografía se utiliza para determinación cualitativa de los componentes de la mezcla y para la determinación de los Rf de los compuestos.

2º. Determinación de la actividad de las distintas zonas del cromatograma:

Se corta el cromatograma en bandas de 1 cm de ancho (resultando rectángulos de 3 x 1 cm), se montan las bandas en porta preparados de aluminio, cuidando que la geometría sea igual en todos los preparados y se mide la actividad de las distintas bandas en tubo Geiger-Müller.

Cálculo del porcentaje de impurezas:

$$\% \text{ de impurezas} = \frac{\text{c/m de la impureza}}{\text{c/m totales}} \times 100$$

c/m de la impureza: se obtiene sumando la actividad de las bandas correspondientes a la zona donde se halla ubicada la impureza.

c/m totales: se obtiene sumando la actividad de todas las bandas del cromatograma.

3º. Barrido automático del cromatograma: se realiza mediante el aparato de la página 2-4.

Consta de un tubo G.M. de ventana delgada que mira a través de un diafragma de plomo de 2 mm de ancho, a una "cinta-sin-fin" cuyo movimiento es sincrónico al del papel de un registrador.

El registrador y el tubo están conectados a un integrador y amplificador lineal.

El cromatograma seco y envuelto en papel celofán se fija a la "cinta-sin-fin" con papel engomado, previo desacople de la cinta.

Se desplaza manualmente la cinta para elegir la escala de actividad adecuada; se ubica el extremo del cromatograma frente a la ranura del tubo y se acopla finalmente el sistema de desplazamiento al mecanismo del registrador.

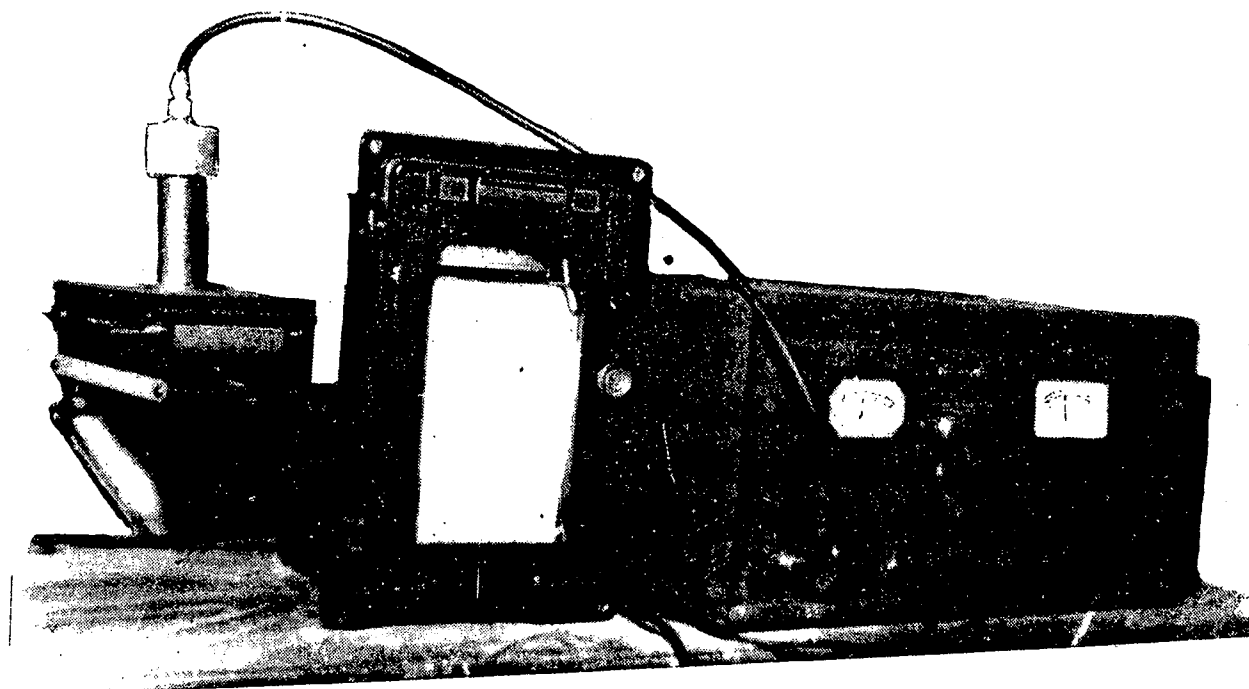
Una vez barrido el cromatograma los picos de actividad dibujados en el papel registrador se recortan cuidadosamente y se pesan.

Los picos de las sustancias se identifican por su Rf.

$$\% \text{ de impurezas} = \frac{\text{peso de los picos de impurezas} \times 100}{\text{peso de impurezas} + \text{peso del pico sust.}}$$

- g) Cálculo del Rf : se obtiene el valor Rf de una sustancia por:
- $$Rf = \frac{\text{distancia línea de partida} - \text{frente de mancha}}{\text{distancia línea de partida} - \text{frente del solvente.}}$$

Puesto que el valor del Rf puede variar ligeramente con las condiciones experimentales, los Rf consignados en cada caso en particular, deben considerarse como una indicación de la ubicación relativa de los compuestos en el cromatograma.



II Electroforesis

- a) papel: se usan en bandas de 3 cm. de ancho por 40 cm. de largo, de la marca y número indicado por la técnica.
- b) siembra: en el centro del papel se hace, con lápiz, una línea. Toda banda se humedece en el buffer a usar y se elimina el exceso, secándola con papel de filtro; luego se siembra. La siembra se hace mediante una pipeta Pasteur a lo largo de la línea de lápiz, cuidando de no rasgar el papel ni llegar a sus bordes.
- c) dispositivo de migración: consta de: (1) dos cubas rectangulares de lucite de 3x14x8 cm., donde se colocan el solvente y los electrodos. (2) dos vidrios planos, de 6x30 cm., que constituyen los soportes para el papel. (3) una fuente de tensión.
- d) migración: el papel ya sembrado se coloca entre los dos vidrios, cuidando que de ambos extremos sobresalgan unos 5 cm. de papel, que "pescan" en el buffer de ambas cubas.

Se hace pasar la corriente por el tiempo y a la tensión indicada por la técnica. Terminado este paso se desconecta la fuente y se retira el papel, manteniéndolo en forma horizontal para evitar el reflujo de los iones. Luego se procede al revelado, usando las técnicas descriptas en "Cromatografía".-

Yodohipurato de sodio (^{131}I)

Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman 3 MM

Cuba: C_2

Solvente: butanol _____ 16 ml

a. acético _____ 4 ml

agua _____ 4 ml

migración: 10-15 horas en la oscuridad

Rf. Yodohipurato _____ 0,92

Yoduros _____ 0,23

Productos de descomposición _____ 1

Impurezas permitidas: hasta 5 p. 100

Bibliografía: Magnusson (G.), Nature 195, 591, (1962)

- - - - -

Rosa de Bengala (¹³¹I)

Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman Nº 1

Cuba: C₃

Solvente: citrato de amonio _____ 2 g.

agua c.s.p. _____ 100 ml.

amoníaco c.s.p. _____ pH 7

Migración: 2 horas

Rf.: Rosa de Bengala _____ (0,05
(0,1Yoduros _____ 1 (aproxima
damente)

Yoduros permitidos: menos del 5%

Bibliografía: Cohen (Y) CEA (Francia) 2150 (1962)

- - - - -

Yodoalbúmina (^{131}I)

Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman Nº 1

Cuba: C₃

Solvente: metanol _____ -70%

Migración: 3 horas, en la oscuridad

Rf.: Yodoalbúmina _____ 0

Yodato _____ 0,50 - 0,55

Yoduro _____ 0,80 - 0,85

Impurezas permitidas: Yoduros y/yodatos: menos del 3%

Bibliografía: U.S. Pharm. XVI ed., pág. ~~602~~²⁴, (1960)

- - - - -

$^{131}\text{I Na}$

Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman Nº 1

Cuba: C_3

Solvente: metanol _____ 75%

Sembrado: usando como portador una gota de una solución

que contiene: IK _____ 0,1%

IO_3K _____ 0,2%

CO_3HNa _____ 1%

Migración: 4 horas

Rf.: Yoduros _____ 1

Yodatos _____ 0,46

Impureza permitida como IO_3 : menos del 5% de la actividad
del I.

Bibliografía: U. S. Pharm. XVI ed., pág. 682, (1960)

Trioleína (^{131}I)

Acido oléico (^{131}I)

- Térmica: electroforesis

Papel: Whatman 3 MM; largo: 40 cm.

Solución estabilizadora: CO_3HNa , 2 p. 1000

Migración: 1 hora; 300 V, 2 mA

Impurezas permitidas: Yoduros hasta 5%.

- - - - -

Yodoantipilina ^{131}I

Térmica: electroforesis

Papel: Whatman Nº 1

Solución estabilizadora: PO_4 de fosfatos pH 7; M/15

Preparación: $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ M/15 _____ 370 ml (9.07 g/1000 ml)

PO_4HNa_2 M/15 _____ 630 ml (11.87 g/1000 ml)

Migración: 2,5 horas - 300 V - 2 mA

Impurezas permitidas: Yoduros hasta 5%

- - - - -

198 Au - coloidal

Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman Nº 1

Cuba: C₃

Solvente: acetona _____ 70 ml.

agua _____ 20 ml.

a. clorhídrico (D:1.19) ____ 10 ml.

Migración: 1 hora

Rf.: Au coloidal _____ 0

productos solubles _____ 1

Compuestos solubles radiactivos permitidos: hasta 1%

Nota: Según la Farmacopea de Estados Unidos de América,
16ª Ed., 1960, pág. 616, no debe haber otras for-
mas radioquímicas que la coloidal.

Bibliografía: Annal. Pharm. Franc, 17, 250-260, (1959)

- - - - -

$^{32}\text{PO}_4$ Cr coloidal

Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman 30

Cuba: C_3

Solvente: isopropanol _____ 75 ml

agua _____ 25 ml

ácido tricloroacético _____ 5 g

amoníaco (22·Bé) _____ 0,3 ml

Migración: 4-5 horas

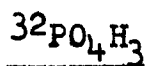
Rf.: $^{32}\text{PO}_4$ Cr coloidal _____ 0

Productos solubles _____ 1

Compuestos solubles radiactivos permitidos: hasta 5%

Bibliografía: Cohen (Y), CEA (Francia), 1693, (1960)

- - - - -



Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman Nº 1, lavado

Lavado del papel: 1º: con Cl H al 10% durante 2 días; para ello, de una cuba que contiene el ácido clorhídrico se cuelga el papel, cuyo extremo superior está sumergido en la solución clorhídrica; ésta, por capilaridad, moja todo el papel.

2º: con agua destilada durante 4 días; se hace en la misma forma, pero colocando en la cuba agua destilada.

3º: retirar el papel, dejar secar y luego rociarlo con agua destilada mediante un pulverizador. Secar y repetir la operación unas 10 veces.

Cuba: C₁

Solvente: isopropanol	_____	40 ml
isobutanol	_____	20 ml
agua	_____	39 ml
amoníaco (conc.)	_____	1 ml

(Solventes comerciales, purificados por destilación y amoníaco Merck).

///////

////////

$^{32}\text{PO}_4\text{H}_3$ (Cont.)

Siembra: agregando I-II gotas de $\text{PO}_4\text{H Na}_2$ de 5 mg/ml de recipiente preparación, como portador.

Migración: 24 horas

Rf.: ortofosfatos	_____	0,43 ^N
pirofosfatos	_____	0,33
tripolifosfatos	_____	0,30
trimetafosfatos	_____	0,54
tetrametafosfatos	_____	0,48
sales de Graham	_____	0,

Impurezas permitidas: hasta 1%.

Bibliografía: Ebel (A.J.P.), Volmar (Y), Compt. rend.,
233, 415, 1951.-

- - - - -

Investigación de $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ en $^{32}\text{PO}_4^{3-}$

Separación de $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ por electroforesis

Papel: Whatman 3 MM, 40 cm de largo

Solución estabilizadora: ácido nítrico 0,25 M

Migración: 1 hora; 6 Voltios/cm

Bibliografía: KFK (Alemania) 62 (1961)

^
- - - - -

GEITHOFF D.

Kernforschungszentrum Karlsruhe

$^{51}\text{Cr O}_4\text{Na}_2$

Cromatografía: ascendente

Papel: Whatman Nº 2

Cuba: C₃

Solvente: agua destilada _____ 125 ml

alcohol 95º _____ 50 ml

amoníaco (conc.) _____ 25 ml

Migración: 2,5-3 horas

Rf.: Cr O_4^- : 0,9

Cr^{+++} : 0

Cr^{+++} permitido: menos del 1%

Nota: Según la Farmacopea de Estados Unidos de América,
16ª Ed., 1960, no debe contener Cr^{+++} ni ninguna
otra forma química que no sea Cr O_4^- .

Bibliografía: Cohen (Y), Ingrand (J), CEA (Francia), 1618,
(1960)

- - - - -

3 - Pruebas de esterilidad

Todo material inyectable debe estar estéril, es decir: no debe contener ninguna forma de seres vivientes.

Existen varios métodos de esterilización, aplicándose unos u otros según la naturaleza del objeto o sustancia a esterilizar.

Los radionucléidos inyectables generalmente se esterilizan por vapor de agua a presión, o sea en autoclave a 120° C y a 1 atm., durante 30 minutos.

Los preparados radiactivos que no toleran este tratamiento se esterilizan por filtración mediante filtros Millipore y se preparan en área estéril.

Finalmente, es necesario comprobar si la esterilización fué efectiva, para lo cual se realizan en el laboratorio de controles farmacéuticos las pruebas de esterilidad. Estas consisten en sembrar, por duplicado, II-III gotas del material en ensayo en cada uno de los medios de cultivo utilizados e incubar en estufa a 34-35° C. Se observa el resultado a las 24 horas, 48 horas y 7 días.

Se autoriza la distribución después de lectura negativa a las 24 horas de sembrado.

Los medios de cultivo empleados son caldo, tioglicolato y Sabourand. Se usa medios deshidratados (Difco, por ejemplo), que se prepara según indican sus fabricantes.

4 - Prueba de piretógenos

Tiene por objeto investigar la presencia de sustancias que al ser inyectadas causan aumento de temperatura. Para esta prueba se sigue la técnica de la Farmacopea Argentina, 4a. edición (1956), página 696.

Es decir: a tres conejos de 2-4 kilos de peso, y previo ayuno de 4 horas, se les toma la temperatura rectal, que debe estar comprendida entre 38.9-39.8° C y sin acusar variaciones mayores de 0.2° C, dentro de un intervalo de 20 minutos.

Se hace la inyección del material a probar en la vena marginal de la oreja.

Se vuelve a tomar la temperatura rectal a los 60, 90, 120, 180 minutos.

La sustancia ensayada se considera libre de piretógenos si la temperatura en los tres conejos aumentó menos de 1.4° C.

Dosis a inyectar a los conejos:

$^{32}\text{PO}_4\text{HNa}_2$ _____	0.17 mC
$^{32}\text{PO}_4\text{Cr}$ coloidal _____	0.94 mC
^{198}Au coloidal _____	3.2 mC
$^{51}\text{CrO}_4\text{Na}_2$ _____	0.003 mC
Yodoalbúmina (^{131}I) _____	0.001 mC
Rosa de Bengala (^{131}I) _____	0.0002 mC