

ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE LA ESTABILIDAD DE SUSTANCIAS DE REFERENCIA DESARROLLADAS POR EL SERVICIO DE SUSTANCIAS DE REFERENCIA DEL INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS

Retrospective analysis of the stability of reference substances developed by the Reference Substances Service of the National Institute of Medicines

Melina A. Dal Mas*, Eliana N. Pasquini*, Ana L. Pointner*, María Cristina Vallese, Yanina I. Rodríguez, Matías E. Gómez.

Servicio de Sustancias de Referencia, Departamento de Laboratorio Nacional de Control, Dirección de Fiscalización y Gestión de Riesgo, Instituto Nacional de Medicamentos, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, Buenos Aires, Argentina.

Contacto: sr@anmat.gov.ar

**Estos autores contribuyeron equitativamente al desarrollo de este trabajo.*

Recibido: 1 de febrero de 2019. Aprobado: 27 de noviembre de 2020.

RESUMEN

El desarrollo de una Sustancia de Referencia (SR) es un proceso laborioso en el cual deben cumplirse de manera rigurosa una serie de etapas llevadas a cabo sobre un material homogéneo y de pureza adecuada. Las condiciones de conservación elegidas para las sustancias en desarrollo deben ser estudiadas y consignadas para mantener, en el tiempo, la calidad del material y su integridad, evitando cualquier posible degradación. La calidad de las SR influye en el resultado del control de calidad de una materia prima o especialidad medicinal que la contenga, por lo tanto, resulta importante tener en cuenta que, si se presenta un deterioro en ella, los resultados obtenidos pueden afectar el cumplimiento de los requisitos técnicos especificados. El propósito principal de este trabajo fue demostrar de manera retrospectiva, la importancia de realizar un seguimiento y evaluación del perfil de pureza para no asignar una fecha de vencimiento arbitraria, evitando el descarte de material en buen estado. Para ello se recurrió a evaluar la variación de diversos atributos (porcentaje de impurezas presentes, contenido de agua o porcentaje de humedad, valoración y pureza cristalina) de diversas Sustancias de Referencias elaboradas por el Servicio de Sustancias de Referencias del Instituto Nacional de Medicamentos. Como resultado, se observó una muy baja variabilidad en los distintos atributos evaluados, lo cual podría indicar que dichas sustancias mantienen sus propiedades en el tiempo y que el reanálisis periódico de control podría ser una estrategia adecuada para evitar un descarte innecesario.

Palabras clave: Sustancias de Referencia, estabilidad, calidad.

ABSTRACT

The development of a Reference Substance (RS) is an elaborate procedure in which a series of stages must be rigorously carried out on a homogeneous material of adequate purity. The storage conditions chosen for the source material must be studied and established to maintain its quality and integrity over time, avoiding any possible degradation. The quality of the RS impacts on the quality assurance of the raw material or medicinal specialty which contains it, therefore, it is important to consider that, if any deterioration is found in the RS, the results obtained may affect compliance with the specified technical requirements. The main purpose of this research work was to prove retrospectively the importance of monitoring and evaluating the purity profile in order not to assign an arbitrary expiration date, avoiding the discarding of undamaged material. For this purpose, various attributes (percentage of impurities, water content or humidity percentage, assay, and crystalline purity) of different RS made by the Reference Substances Service of the National Institute of Medicines were evaluated. As a result, a very low variability was observed in the diverse attributes evaluated, which could indicate that these substances preserve their characteristics over time and that a periodic re-assessment could be a suitable strategy in order to prevent unnecessary discarding.

Keywords: Reference substances, stability, quality.

INTRODUCCIÓN

Una Sustancia de Referencia (SR) es un material de uniformidad comprobada cuyo empleo se reserva a ensayos químicos y físicos específicos en los que se comparan sus propiedades con las de un producto en análisis y, además, posee un grado de pureza adecuado para el uso al que se destina^[1]. Estos materiales, que permiten al usuario obtener resultados precisos y trazables, se usan para identificar, determinar la pureza o cuantificar ingredientes farmacéuticos activos en su control de calidad y en el control de los productos farmacéuticos que los contengan. También son útiles en la verificación del correcto funcionamiento de instrumentos y para corroborar o poner a punto los métodos analíticos aplicados.

Asimismo, la Autoridad Sanitaria establece el uso de materiales de referencia adecuados para el control de calidad de los productos farmacéuticos como requerimiento básico para la fabricación, importación/exportación de medicamentos^[2].

Considerando que la calidad de las SR influye en el resultado del control de calidad de una materia prima o especialidad medicinal que la contenga, es importante tener en cuenta que, si se presenta un deterioro en ella, los resultados obtenidos pueden afectar el cumplimiento de los requisitos técnicos especificados. Por ello, el desarrollo de SR es un proceso crítico en el cual deben cumplimentarse una serie de etapas. Dicho proceso requiere de lineamientos adecuados que abarquen el análisis, fraccionamiento, acondicionamiento, conservación, distribución y re-análisis de dichas sustancias. Asimismo, se deben aplicar los recaudos apropiados durante el desarrollo, almacenamiento y distribución para garantizar que sean adecuadas para el uso previsto. Todas las operaciones deben llevarse a cabo bajo un sistema de gestión de calidad definido^[3].

Como establece la Organización Mundial de la Salud (OMS), el desarrollo, establecimiento y control de materiales de referencia de las Farmacopeas requiere un esfuerzo continuo, el cual incluye estudios de idoneidad para su uso, estudios de estabilidad, investigación de nuevos materiales de referencia para la codificación de nuevas monografías y para la actualización de las ya existentes, y el estudio de materiales candidatos para lotes de reemplazo^[4].

Durante el proceso de fraccionamiento de los ingredientes farmacéuticos activos a ser utilizados para la elaboración de una SR, el control de las condiciones ambientales (luz atenuada, temperatura y humedad) es de significativa importancia en la calidad final de los estándares desarrollados dado que permite evitar la degradación térmica o lumínica, como así también la absorción de humedad por parte del material con sus consecuentes alteraciones fisicoquímicas. En este sentido, garantizar la hermeticidad de los viales también es fundamental, por lo que debe controlarse también durante el proceso de acondicionamiento previo a su conservación en las condiciones de temperatura recomendada.

La fecha de vencimiento identifica el fin de la vida útil de un producto, período durante el cual deberá cumplir con sus requisitos de calidad, siempre que éste se conserve en las condiciones de almacenamiento establecidas^[5]. Sin embargo,

en el caso de las SR, la asignación de una fecha de vencimiento prematura podría conducir al descarte de materiales en buen estado. Es así que mediante la realización de ensayos de estabilidad periódicos sobre las SR es posible evaluar si las propiedades y atributos de calidad se mantienen dentro de los requerimientos propuestos, evitando establecer una fecha de caducidad arbitraria. Los controles periódicos tienen como finalidad la búsqueda y el análisis de indicios de degradación y/o contaminación mediante ensayos que permiten la estimación de impurezas, tales como cromatografía en capa delgada (TLC, por sus siglas en inglés), cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés), contenido de agua por coulombimetría, pérdida de masa por pérdida por secado (PPS) o termogravimetría (TG), determinación del rango de fusión y pureza cristalina por calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés), como así también, ensayos de valoración aplicando técnicas potenciométricas o cromatográficas para evaluar su título en el transcurso del tiempo. Además, tal como se mencionó, cualquier deterioro de la SR influye en el control de calidad de una materia prima o de la especialidad medicinal que la contiene, por lo tanto es de suma importancia que su estabilidad se vigile en períodos regulares y que esas SR sean sustituidas en cuanto se observa un cambio de importancia en alguna de sus propiedades^[6].

El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis retrospectivo sobre la variación en los atributos de calidad (porcentaje de impurezas presentes, contenido de agua o porcentaje de humedad, valoración, y pureza cristalina) de diversas SR, evaluadas en distintos años, como parámetro indicativo de la estabilidad de las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se relevó la documentación correspondiente a los ensayos periódicos de estabilidad que se realizaron sobre diversas SR desarrolladas por el Servicio de Sustancias de Referencias del Laboratorio Nacional de Control de la Dirección de Fiscalización y Gestión de Riesgos del Instituto Nacional de Medicamentos (INAME).

Para la revisión de documentación se incluyeron las siguientes SR: Ácido 6-Aminopenicilánico Impureza de Sulbactam (6-APA) Control N° 111006/6-APA, Clorhidrato de Amiodarona Control N° 107001, Atenolol Control N° 199041, Betametasona Control N° 189029, Clorhidrato de Ciprofloxacina Control N° 102044, Maleato de Clorfeniramina Control N° 181013, Clordiazepóxido Control N° 181015, Bromhidrato de Dextrometorfán Control N° 183019, Clorhidrato de Dextropropoxifeno Control N° 179009, Clorhidrato de Difenhidramina Control N° 183018, Maleato de Enalapril Control N° 110004, Fenobarbital Control N° 112009, Glibenclamida Lote N° 1018, Lorazepam Control N° 180010, Clorhidrato de Metoclopramida Control N° 179006, Clorhidrato de Nafazolina Control N° 185024, Naproxeno Control N° 100042, Nifedipina Control N° 189030, Nimodipino Control N° 108002, Norfloxacinol Lote N° 1014, Clorhidrato de Pseudoefedrina Control N° 111007, Sulbactám Sódico Control N° 111006, Teofilina Control N° 191033, Tioconazol Control N° 109003, Trimetoprima Control N° 180012.

Para la evaluación de la información relevada se tuvieron en cuenta, en todos los casos, los datos obtenidos en el análisis realizado al lote de la SR en cuestión al momento de su establecimiento y el último análisis realizado.

Los valores de los parámetros evaluados se obtuvieron por utilización de metodologías de análisis codificadas en la Farmacopea Argentina y en otras bibliografías internacionalmente reconocidas, tales como Farmacopea de los Estados Unidos (USP, por sus siglas en inglés) y Farmacopea Europea (EP, por sus siglas en inglés).

Las SR mencionadas en el presente trabajo fueron fraccionadas en condiciones de penumbra, bajo valores de temperatura y humedad controlada (entre 20 y 22 °C y a una humedad relativa menor al 10 %) y acondicionadas en frascos ampolla de vidrio neutro color caramelo, con tapón de bromobutilo y precinto de aluminio ajustado de manera tal que no gire sobre el tapón.

Todas estas sustancias fueron conservadas en las condiciones consignadas en su correspondiente Informe Técnico, cámara de frío a 5 °C ± 3 °C, bajo condiciones de buenas prácticas de laboratorio desde el momento de su establecimiento hasta el presente, excepto para el caso de Sulbactam Sódico cuya temperatura de conservación fue alrededor de - 20°C.

RESULTADOS

En la **Tabla 1** se muestran los valores de humedad y contenido de agua obtenidos del análisis de diez SR al momento de su establecimiento y en el último estudio de estabilidad realizado (entre paréntesis se indica el año correspondiente).

En la **Tabla 2** se pueden observar los resultados de las valoraciones potenciométricas de diez SR analizadas al momento de su establecimiento y en el último ensayo de estabilidad (entre paréntesis se indica el año correspondiente).

En la **Tabla 3** se indican los datos de pureza obtenidos, por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés), de siete SR analizadas al momento de su establecimiento y en el último control de estabilidad (entre paréntesis se indica el año correspondiente).

En la **Tabla 4** se muestra el porcentaje de impurezas presentes de diez SR analizadas al momento de su establecimiento y en el último control de estabilidad (entre paréntesis se indica el año correspondiente).

En la **Figura 1** se indica, sobre un total de 102 SR establecidas, los porcentajes de Hojas de Información Técnica que debieron ser modificadas luego de algún ensayo de estabilidad.

TABLA 1: DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AGUA O PORCENTAJE DE PÉRDIDA POR SECADO.

Sustancia	Metodología	Establecimiento	Último control
Metoclopramida, Clorhidrato de	Coulombimetría	5,13 % (1979)	4,98 % (2018)
Betametasona	Coulombimetría	0,15 % (1989)	0,21 % (2017)
Dextropropoxifeno, Clorhidrato de	Coulombimetría	0,04% (2010)	0,04% (2015)
Teofilina	Coulombimetría	0,32 % (1991)	0,41 % (2017)
Lorazepam	Coulombimetría	0,07 % (1994)	0,09 % (2015)
Pseudoefedrina, Clorhidrato de	Pérdida por secado	0,03 % (2011)	0,00 % (2017)
Trimetoprima	Pérdida por secado	0,02 % (1980)	0,00 % (2018)
Dextrometofán, Bromhidrato de	Coulombimetría	4,95 % (1983)	4,90 % (2010)
Atenolol	Coulombimetría	0,39 % (1990)	0,53 % (2014)
Ciprofloxacino, Clorhidrato de	Coulombimetría	6,30 % (2002)	6,30 % (2019)

TABLA 2: VALORACIÓN DE SUSTANCIAS POR POTENCIOMETRÍA.

Referencias: SSA: sobre sustancia anhidra. SSTC: sobre sustancia tal cual. SSS: sobre sustancia secada.

Sustancia	Establecimiento	Último control
Metoclopramida, Clorhidrato de	100,2 % SSA (1979)	101,4 % SSA (2018)
Dextropropoxifeno, Clorhidrato de	100,2 % SSS (1979)	100,3 % SSA (2018)
Clordiazepóxido	99,9 % SSS (1981)	100,2 % SSA (2018)
Dextrometorfán, Bromhidrato de	100,0 % SSA (1983)	99,9 % SSA (2010)
Teofilina	99,3 % SSA (1991)	99,3 % SSA (2003)
Clorfeniramina, Maleato de	100,0 % SSS (1981)	100,0 % SSS (2018)
Impureza de Sulbactam, 6-APA	97,2 % SSTC (2011)	97,6 % SSTC (2017)
Trimetoprima	100,1 % SSS (1980)	100,0 % SSS (2018)
Norfloxacina	99,6 % SSTC (2012)	99,7 % SSTC (2019)
Enalapril, Maleato de	99,8 % SSTC (2010)	100,0 % SSTC (2019)

TABLA 3: ESTIMACIÓN DE LA PUREZA CRISTALINA EN MOLES % POR CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.

Sustancia	Establecimiento	Último control
Dextropropoxifeno, Clorhidrato de	99,77 % (2010)	99,76 % (2016)
Trimetoprima	99,97 % (2000)	99,99 % (2015)
Difenhidramina, Clorhidrato de	99,77 % (2006)	99,88 % (2016)
Nafazolina, Clorhidrato de	99,15 % (1986)	99,35 % (2016)
Nifedipina	99,99 % (2005)	99,98 % (2015)
Atenolol	99,84 % (1990)	99,94 % (2019)
Fenobarbital	99,67 % (2012)	99,85 % (2019)

TABLA 4: ESTIMACIÓN DE IMPUREZAS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC).

Sustancia	Establecimiento	Último control
Ciprofloxacina, Clorhidrato de	0,12 % (2002)	0,14 % (2018)
Teofilina	0,05 % (1991)	0,01 % (2019)
Naproxeno	0,03 % (2000)	0,03 % (2010)
Ciprofloxacino, Clorhidrato de	0,12 % (2002)	0,14 % (2019)
Amiodarona, Clorhidrato de	0,14 % (2000)	0,18 % (2019)
Enalapril, Maleato de	0,28 % (2000)	0,33 % (2010)
Nimodipino	0,21 % (2000)	0,15 % (2010)
Tioconazol	0,36 % (2009)	0,41 % (2019)
Sulbactam sódico	0,08 % (2011)	0,18 % (2019)
Glibenclamida	0,29 % (2000)	0,26 % (2010)

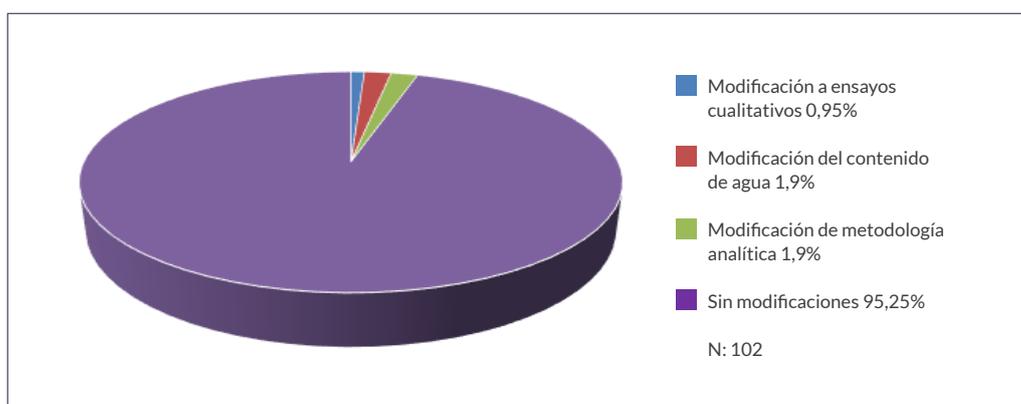


FIGURA 1. RELEVAMIENTO DE CAMBIOS EN LAS HOJAS DE INFORMACIÓN TÉCNICA.

DISCUSIÓN

Mediante el seguimiento de estabilidad de las SR, el cual se realiza desde su establecimiento hasta su baja o agotamiento a una frecuencia establecida, se verifica la calidad y perfil de pureza. En los casos mencionados en esta revisión, no se evidenciaron variaciones que impacten en la calidad de los atributos fisicoquímicos que puedan llevar al descarte del material. Esto podría atribuirse al control de los parámetros ambientales durante la etapa de fraccionamiento, como así también en su posterior conservación. Factores ambientales como la humedad, temperatura y exposición a la luz podrían actuar como catalizadores de reacciones de degradación.

Realizar controles periódicos y búsqueda de indicios de degradación en las SR, tal como se ejemplifican en los casos mencionados en este artículo, permite asegurar su calidad evitando un descarte innecesario del material que permanece en buenas condiciones y, por lo tanto, optimizar recursos humanos, materiales e insumos.

Según la OMS, todas las SR preparadas en el laboratorio deben ser re-analizadas a intervalos regulares para asegurar que no ha ocurrido deterioro. Este intervalo de re-análisis dependerá de un número de factores, incluyendo estabilidad de la sustancia, condiciones de almacenamiento empleadas, tipo de envase y grado de uso (con qué frecuencia se abre y cierra el envase). En el caso de que los resultados del re-análisis de una SR no cumplieran con las especificaciones, se deberá llevar a cabo una revisión retrospectiva de los ensayos realizados usando dicha SR desde la última evaluación de la misma, y debiéndose aplicar análisis de riesgo para la evaluación de los resultados de la revisión retrospectiva y la consideración de posibles acciones correctivas^[7]. Por otro lado, las SR farmacopeicas son regularmente re-analizadas y su validez (estado actual) puede ser consultada en la farmacopea que las provee, por varios medios, ej. sitios web o catálogos. El re-análisis por el laboratorio no es necesario, siempre y cuando las SR se almacenen de acuerdo con las condiciones indicadas.

Para el caso de las SR establecidas bajo la responsabilidad de ANMAT-INAME y Farmacopea Argentina, cuando se detecta alguna modificación significativa que altera sus propiedades, la sustancia en cuestión es dada de baja. Cuando la modificación detectada en su atributo no es significativa, su Hoja de Información Técnica (HIT) es actualizada detallando los nuevos valores como, por ejemplo, en el caso de la SR Atenolol mencionada, donde el contenido de agua pasó de 0,39 % a 0,53 % (Tabla 1). La definición de lo que se supone una variación significativa o de importancia difiere según el uso al que se destine la SR. Una modificación en el porcentaje de impurezas puede no afectar la utilidad del material para pruebas de identificación, pero puede resultar inadmisiblesi se utiliza en ensayos cromatográficos cuantitativos.

Comparando con otras agencias y organizaciones, en el caso de las que son provistas por la OMS, su estabilidad es controlada a través de exámenes periódicos llevados a cabo por dicho organismo internacional, y todo material que se haya deteriorado es reemplazado por un nuevo lote^[8].

La correcta conservación de las SR resulta, además, una variable crítica para poder garantizar su calidad. Tanto la Farmacopea Europea como la Farmacopea de los Estados Unidos consignan en el rótulo la conservación de los estándares que distribuyen, y hacen responsable al usuario de cumplir con este requisito para asegurar la calidad del material^[9,10]. La Farmacopea Argentina detalla la forma de conservación de sus SR en la HIT que se distribuye junto al material o que se encuentra disponible para su consulta en la página web de ANMAT.

CONCLUSIÓN

El presente análisis retrospectivo de los resultados de los ensayos realizados sobre distintas SR permite observar que, a lo largo del tiempo, no se detectaron alteraciones significativas que puedan impactar negativamente en el título asignado y en su uso como referencia, demostrando que no es necesario la asignación de una fecha arbitraria de caducidad de las sustancias establecidas, mientras se realice un seguimiento de estabilidad. Por lo expuesto, se podría concluir que, asegurando las adecuadas condiciones de conservación, las SR permanecerían confiables y estables logrando así mantener su calidad por períodos prolongados.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Annex 3. General guidelines for the establishment, maintenance and distribution of chemical reference substances. WHO technical report series; no. 943. 2007.
- 2- Disposición ANMAT 3827/2018. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación para elaboradores, importadores/exportadores de medicamentos para uso humano. Capítulo 6. Control de Calidad. Argentina: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica; 2018.
- 3- World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Annex 3. Introduction. 35° report. WHO technical report series; no. 885. 2007.
- 4- World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Annex 3. Assessment of need for the establishment of chemical reference substances. 35° report. WHO technical report series; no. 885. 2007.
- 5- Disposición ANMAT 6781/2019. Farmacopea Argentina 7 Edición. Primer suplemento. Consideraciones generales. Argentina: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica; 2019.
- 6- World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Annex 3. Stability. 35° report. WHO technical report series; no. 885.; 2007.
- 7- World Health Organization. WHO good practices for pharmaceutical quality control laboratories. Annex 1. WHO technical report series; no. 957. 2010.
- 8- World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Annex 1. WHO technical report series; no. 885. 2007.
- 9- United States Pharmacopeial and National Formulary (USP 42 – NF 37). <11> USP Reference Standards. 2020.
- 10- European Pharmacopoeia 10th edition (EP 10.0). 5.12 Reference Standards. 2020.