

	DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO
	<b>Determinación cualitativa de misoprostol por  HPLC/DAD en comprimidos</b>	<b>P-DCF-ECT-QUI-037</b>
VERSION: 03	Rige desde: 02/06/2021	PAGINA: 1 de 10

<b>Elaborado o modificado por:</b>  M Sc Manuel Oreamuno Zepeda Perito Judicial 2  Lab. Quim. Susana Alfaro Soto Técnico Especializado 6	<b>Visto Bueno Encargado de Calidad:</b>  Licda. Ginnette Amador Godoy Encargada de Calidad  <b>Revisado por Líder Técnico:</b>  M Sc. Jorge Cartín Elizondo Líder Técnico
<b>Aprobado por:</b>  Licda. Patricia Fallas Meléndez Jefatura, Sección de Química Analítica	

#### CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	15/083/2010	01/03/2019	Versión Inicial del Procedimiento	-	PFM
02	01/03/2019	02/06/2021	Se realiza transferencia a nuevo formato, se elimina las pruebas de color y diagrama del procedimiento	02-19	PFM
03	02/06/2021		Actualización por validación	09-21	PFM

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL  
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES  
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 2 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

## 1 Objetivo:

El objetivo de este PON es describir los pasos necesarios para realizar la identificación química de misoprostol y misoprostol ácido en comprimidos (tabletas) o fragmentos.

## 2 Alcance:

Este procedimiento describe una metodología por extracción líquida - HPLC/DAD para la identificación de misoprostol y misoprostol ácido en comprimidos sin importar su estado (nuevos, fragmentados, impregnado de fluidos biológicos).

## 3 Referencias:

3.1 Arky, R. Physicians` s Desk Reference, PDR, 50th edition, Medical Economics Company at Montvale, New Jersey, 1996.

3.2 Searle de México Procedimiento de Análisis de producto terminado Cytotec 200 mcg por tableta; Clave 1111567; número de método 1111567-05, fecha del método 18-FEB-93.

3.3 [Informe de validación 016-QUI-VAL-2020 Determinación cualitativa de misoprostol en tabletas por HPLC/DAD.](#)

## 4 Equipos y Materiales:

### 4.1 Equipo instrumental:

- balanza granataria, mínima división  $\pm 0,01$  g; ámbito 0 a 1000 g ó similar
- baño ultrasónico con temporizador y ajuste de intensidad o similar
- calibre de ámbito de 0 mm a 100 mm con un nonio i vernier de una apreciación de 0,05 mm
- centrífuga para tubos de PP de 15 mL que permita centrifugar a 3000 rcf o similar
- [cromatógrafo HPLC/DAD Agilent 1260 Infinite, con bomba cuaternaria y detector UV/vis DAD \(Este equipo pertenece a la Sección de Toxicología\)](#)
- [columna cromatográfica Eclipse Plus C8 de 150 mm \\* 3,0 mm \\* 3,5  \$\mu\$ m](#)
- vortex con temporizador con ajuste de intensidad o similar

### 4.2 Materiales y Cristalería:

- balones aforados, varios tamaños
- beaker, varios tamaños
- jeringas de HDPE, desechables
- microfiltros de membrana de nylon de 0,45  $\mu$ m, para jeringa, desechables
- micropipetas automáticas, varios tamaños
- mortero con pistilo
- tubos de polipropileno de 15 mL con tapa
- viales ámbar de 4 mL, sililizados
- viales de 1,5 mL para inyector con tapa , desechables

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 3 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

## 5 Reactivos y Materiales de Referencia:

### 5.1 Reactivos:

- acetoniitrilo, grado residuos o HPLC (grado espectroscópico)
- agua destilada o desionizada
- metanol, grado HPLC y espectroscópico

### 5.2 Materiales de referencia:

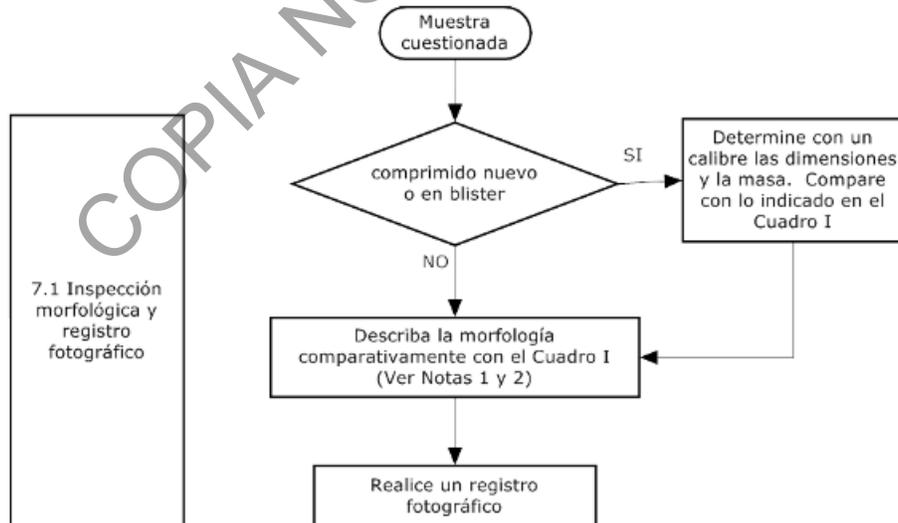
- disolución de trabajo de misoprostol 50 µg/mL (Ver preparación en Anexo 04)
- disolución de trabajo de misoprostol ácido 50 µg/mL (Ver preparación en Anexo 04)
- disolución madre de misoprostol 1000 µg/mL (Ver preparación en Anexo 04)
- disolución madre de misoprostol ácido 1000 µg/mL (Ver preparación en Anexo 04)
- material de referencia de misoprostol
- material de referencia de misoprostol ácido

## 6 Condiciones Ambientales:

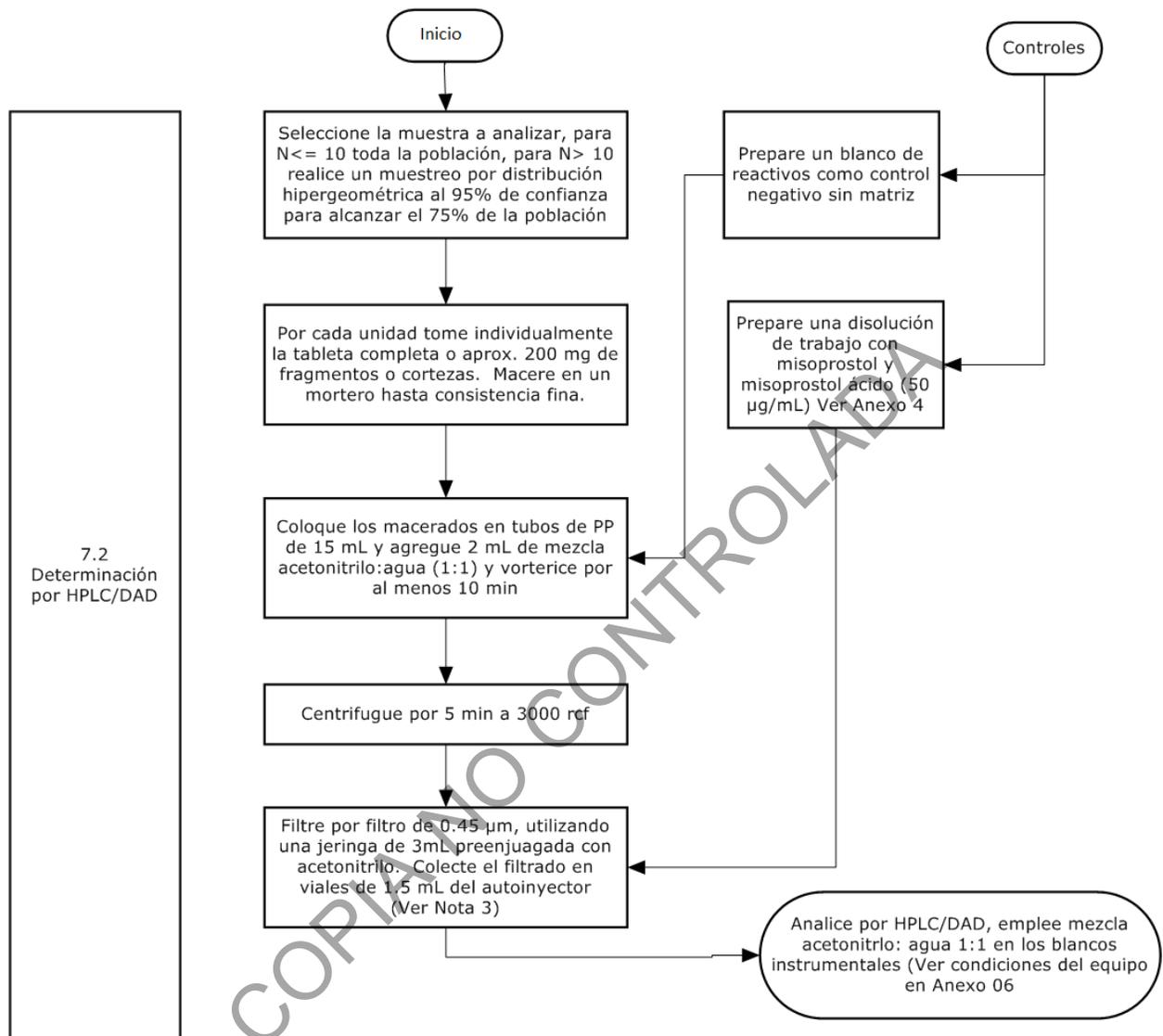
Las condiciones ambientales no afectan los resultados del análisis de misoprostol cuando la muestra ha sido preparada, extraída y analizada en menos de 24 horas.

La muestra extraída se puede congelar a - 20°C por un máximo de 5 días.

## 7 Procedimiento:



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 4 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos		P-DCF-ECT-QUI-037



**Nota No. 1:** La morfología y dimensiones de los comprimidos cuestionados pueden variar levemente en cuanto a los ámbitos que se indican en el Anexo 5.

**Nota No. 2:** El Cuadro I solo presenta las formas de los comprimidos más comunes con la variabilidad típica de comprimidos nuevos. Tenga presente que en el mercado existen comprimidos con misoprostol de diferente morfología.

**Nota No. 3:** El análisis se puede detener en este punto si se almacenan los extractos de las muestras en congelación (-20°C) y preferiblemente por no más de cinco días.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 5 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

## 8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados

Ver PON de Gestión de casos de QTV, apartado 8. Criterios de Aceptación y Rechazo de Resultados: C1, C2b para la determinación cromatográfica.

El espectro de la muestra contra el material de referencia debe ser superponible.

## 9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

La determinación cualitativa de misoprostol en tabletas no conlleva la realización de cálculos ni evaluación de la incertidumbre para la expresión de los resultados.

## 10 Reporte y análisis de los resultados:

Ver PON de Gestión de casos de QTV, apartado 10 Reporte y análisis de resultados.

En caso de realizar una comparación morfológica contra un material de comparación, se debe de colocar en resultados lo siguiente:

“Las características morfológicas evaluadas (color, troqueles y geometría -según corresponda-), en la (muestra analizada) son coincidentes con las de tabletas comerciales con misoprostol.”

## 11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

Ver PON de Gestión de casos de QTV, apartado 11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional.

## 12 Simbología:

Aprox. aproximadamente

DCF: Departamento de Laboratorios de Ciencias Forenses

N/A: no aplica

PON: Procedimiento de Operación Normado

SCD: Solicitud de cambio documental

## 13 Terminología:

N/A

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 6 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

**14 Anexos:**

No. de Anexo	Nombre del Anexo
01	Fotografías de los comprimidos CYTOTEC® y ARTHROTEC® que se expenden en Costa Rica.
02	Preparación de reactivos.
03	Descripción de morfología macroscópica de tabletas Cytotec® y Arthrotec® de la compañía farmacéutica SEARLE.
04	Condiciones para el análisis cromatográfico cualitativo de misoprostol por HPLC

COPIA NO CONTROLADA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 7 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

**Anexo No. 1**

**Comprimidos de misoprostol que se expenden en Costa Rica**



**A.B.**

**Figura 1:** Detalle de las presentaciones farmacéuticas que contienen misoprostol y que se expenden en Costa Rica. A. Morfología de la tableta Cytotec®. B. Morfología de la tableta Arthrotec®. En ambos testigos métricos la menor división de escala corresponde a 1 mm y la división graduada numéricamente corresponde a 1 cm. C. Comprimido de Arthrotec® de 200 µg de misoprostol y 75 mg de diclofenaco, el cual fue intencionalmente fragmentado para mostrar la corteza con misoprostol y el núcleo con diclofenaco sódico

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 8 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

## Anexo No. 2

### Preparación de reactivos

#### A. Disolución madre de misoprostol (1,0 mg/mL)

Trasvase cuantitativamente con metanol, a un matraz volumétrico de 10,00 mL, los 10 mg del material estándar de referencia de misoprostol, agite y afore con el mismo disolvente.

Almacene esta disolución en dos viales de 4 mL ámbar con tapa rosca, bajo congelación (aprox. -20 °C).

Rotule con el nombre, concentración, fecha de preparación, iniciales de quién preparó.

Esta disolución, almacenada en congelación, ha demostrado una vida útil de al menos 12 meses.

#### B. Disolución madre de misoprostol ácido (1000 mg/L)

Agregue, con una micropipeta, exactamente 1000 µL de metanol a la ampolleta del material estándar de referencia de misoprostol ácido con 1,0 mg y agite manualmente.

Almacene esta disolución en un vial de 4 mL, ámbar con tapa rosca, bajo congelación (aprox. -20 °C).

Rotule con el nombre, concentración, fecha de preparación, iniciales de quién preparó.

#### C. Disolución de trabajo de misoprostol ácido (50,0 mg/L) y misoprostol ácido (50,0 mg/L)

Retire del almacenamiento los viales de las disoluciones madre (1000 mg/L) y permita que se equilibre a la temperatura ambiente.

Transfiera, con una micropipeta, una alícuota de 100,0 µL de cada disolución madre a un matraz volumétrico de 2,00 mL y diluya a volumen con mezcla de acetonitrilo:agua destilada (1:1).

Rotule con el nombre, concentración, fecha de preparación, iniciales de quién preparó.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 9 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

### Anexo 03

#### Descripción de morfología macroscópica de tabletas Cytotec® y Arthrotec® de la compañía farmacéutica SEARLE.

**Cuadro I:** Descripción de morfología macroscópica

Característica	Cytotec®		Athrotec®	
	100 µg	200 µg	200 µg y 50 mg	200 µg y 75 mg
<b>Apariencia</b>	<b>Comprimidos de color blanco</b>			
<b>Geometría</b>	Prisma recto de bases circulares planas, y cara lateral cilíndrica	Prisma recto de bases hexagonales planas, y con sus caras laterales rectangulares planas	Prisma recto de bases circulares convexas, y cara lateral cilíndrica	
<b>Dimensiones</b>	No determinadas	<b>Comprimido total:</b> (4,2 ± 0,1) mm apotema de la base hexagonal (3,7 ± 0,1) mm espesor o altura del polígono	No determinados	<b>Comprimido total:</b> (11,1 ± 0,1) mm diámetro, (6,1 ± 0,1) mm espesor o altura cilíndrica, (3,6 ± 0,2) mm cara cilíndrica <b>Núcleo:</b> (7,1 ± 0,1) mm diámetro, (3,5 ± 0,1) mm espesor o altura cilíndrica, (1,9 ± 0,2) mm cara cilíndrica
<b>Biselado</b>	Sin biselados	Biselado al menos en una de sus dos bases hexagonales. La línea de biselado une por el centro a dos lados opuestos del hexágono	Sin biselados	Biselado
<b>Marcas</b>	En una de sus bases se lee el texto "SEARLE" al centro y en la otra base se lee "1451"	En una de sus bases se encuentra "SEARLE" paralelo y arriba de la línea de biselado. En la misma base se encuentra "1461" paralelo y bajo la línea de biselado. En la otra base se puede encontrar dos estómagos, u otra línea de biselado, la cual une por el centro a dos lados opuestos del hexágono.	En una de sus bases se lee el texto "SEARLE" siguiendo el borde de la circunferencia y bajo este texto se lee "1411" de forma recta, mientras que en la otra base se observa una cruz formada con cuatro letras "A", una en cada extremo, encerrando un "50" al centro de la cruz	En una de sus bases se lee el texto "SEARLE" siguiendo el borde de la circunferencia y bajo este texto se lee "1421" de forma recta, mientras que en la otra base se observa una cruz formada con cuatro letras "A", una en cada extremo, encerrando un "75" al centro de la cruz

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 10 de 10
Determinación cualitativa de misoprostol por HPLC/DAD en comprimidos	P-DCF-ECT-QUI-037	

#### Anexo 04

### Condiciones para el análisis cromatográfico cualitativo de misoprostol por HPLC

**Cuadro III: Método Instrumental en el HPLC/ DAD**

Parámetro	Especificación
Columna	columna cromatográfica Eclipse Plus C8 de 150 mm * 3,0 mm * 3,5 $\mu$ m
Velocidad de flujo	0,6 mL/min
Fase móvil	acetonitrilo:agua destilada (50:50)
Temperatura	24°C
Detector	190 nm a 340 nm, step 2,0 nm slit 4 nm 210 nm (Bw 20); Ref 550 (Bw 50) 218 nm (Bw 20); Ref 550 (Bw 50) peak with > 0,05 min (1,0 s response time) (5Hz)
Tiempo de retención	Verificar contra patrón en cada análisis
Tiempo de corrida	Aprox. 10 minutos
Volumen de inyección	10 $\mu$ L