

MeSH-termen

Glucosamine; pharmaceutical preparation; dietary supplements; analysis; pharmacists; Belgium

Samenvatting

Veertien voedingssupplementen en één geneesmiddel op basis van glucosamine en onder de vorm van filmomhulde tabletten en capsules werden geëvalueerd met verschillende testen, waaronder gelijkmatigheid van massa en eenheidsdosissen, uiteenvalbaarheid, identificatie en gehaltebepaling van glucosamine met een gevalideerde HPLC-ELSD methode.

Het geneesmiddel voldeed aan alle gestelde eisen terwijl drie voedingssupplementen niet voldeden wat betreft de uiteenvalbaarheid (product 7) en gehalte aan glucosamine (producten 11 en 13).

Summary

Fourteen food supplements and one medicine containing glucosamine and formulated as film-coated tablets and capsules, were evaluated with different tests, including uniformity of mass and dosage units, disintegration, identification and assay of glucosamine with a validated HPLC-ELSD method.

The medicinal product fulfilled all the fixed requirements whereas three food supplements didn't comply with regard to disintegration (product 7) and content of glucosamine (product 11 and 13).

1. Inleiding

In deze vergelijkende studie werden 15 producten geëvalueerd (Tabel 1), onder de vorm van capsules en filmomhulde tabletten. Slechts 1 product is geregistreerd als geneesmiddel (product 15), de anderen zijn op de markt als voedingssupplement. Al de producten bevatten enkel glucosamine als 'actief bestanddeel'. Op het tijdstip van staalname was Donacom[®] ook op de markt als geneesmiddel maar wegens de interferentie van een excipiëns (sorbitol) met de gehaltebepaling van glucosamine werd dit product niet in de studie opgenomen.

Glucosamine (G) is het 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose en is beschikbaar onder verschillende zoutvormen: de Europese Farmacopee (Ph.Eur.) beschrijft glucosamine hydrochloride (G-HCl; Mr 215,63; 1 g G-HCl = 0,83 g G) en glucosaminesulfaat natriumchloride (Gsulfaat-2NaCl; Mr 573,31; 1 g Gsulfaat-2NaCl = 0,796 g Gsulfaat = 0,625 g G). De USP bevat naast deze zouten ook een monografie van glucosaminesulfaat kaliumchloride (Gsulfaat-2KCl; Mr 605,52; 1 g Gsulfaat-2KCl = 0,754 g Gsulfaat = 0,592 g G). De USP beschrijft enkel het β-anomeer terwijl de Ph.Eur. beide isomeren toelaat (α en β).

Slechts 2 preparaten bevatten G-HCl (product 1 en 7), de overige bevatten Gsulfaat en indien de zoutvorm gespecificeerd is, is dit als KCl.

Volgende testen werden uitgevoerd: gelijkmatigheid van massa, volgens Ph.Eur. <2.9.5>; gelijkmatigheid van eenheidsdosissen, volgens Ph.Eur. <2.9.40>; uiteenvalbaarheid, volgens Ph.Eur. <2.9.1> en de identificatie en gehaltebepaling van glucosamine met een gevalideerde HPLC-ELSD methode.

1. Dienst voor Geneesmiddelenonderzoek (DGO), APB

Tabel 1 - De geanalyseerde glucosaminepreparaten

Nr.	Productnaam	Firma	Claim - Grondstof	mg/eenheid	Lotnummer
Filmomhulde Tabletten					
1	Bioglucosamine Max	Trenker	Glucosamine HCl (Glucosamine)	1500 (1250)	10I23
2	Bio-Rhumal 1500 Forte	Merck	Glucosaminesulfaat	1500	10K29J
3	Glucadol	Nycomed	Glucosaminesulfaat (Glucosaminesulfaat.2KCl)	1500 (2000)	10613096
4	Glucofen	Biodynamics	Glucosaminesulfaat.2KCl (Glucosamine)	750 (443,8)	2100061
5	Glucosamine 1500	Bio-life	Glucosaminesulfaat.2KCl (Glucosaminesulfaat)	1500 (1125)	101000035
6	Moblival	JPG Pharma	Glucosaminesulfaat.2KCl	800	703502
7	Onza	Will Pharma	Glucosamine HCl	1500	09I11
8	Osteoplus mono	Metapharma	Glucosaminesulfaat	750	93061
9	Pro Cartilago Glucosamine 750	Vitafytea	Glucosaminesulfaat (Glucosaminesulfaat.2KCl)	750 (995)	10J01A
10	Rumixx	ixx pharma	Glucosaminesulfaat. 2KCl	1500	F02273
Capsules					
11	Glucosam 750	Deba pharma	Glucosaminesulfaat	750	1027008
12	Glucosamine	Elfe	Glucosaminesulfaat.2KCl	885	10I14
13	Glucosamine 750 supercaps	Superphar	Glucosaminesulfaat	750	G175010H03
14	Glucosamine Forte	Pharma Nord	Glucosaminesulfaat (Glucosaminesulfaat.2KCl)	500 (675)	1003486
15	Glucosamine Pharma Nord	Pharma Nord	Glucosamine (Glucosaminesulfaat) (Glucosaminesulfaat.2KCl)	400 (509) (676)	1100116

2. Methode en resultaten

2.1 Gehalte- en gewichtsspreiding van eenheidsdosissen

Voor tabletten met een gemiddelde massa van minstens 250 mg eist de Ph. Eur. <2.9.5> dat niet meer dan 2 eenheden van de 20 meer dan 5% mogen afwijken van de gemiddelde massa en geen enkele mag meer dan 10% afwijken. De maximale afwijking was 2,7%. Alle producten onder de vorm van tabletten voldeden aan deze eis.

Voor capsules met een gemiddelde massa van minstens 300 mg mogen ten hoogste 2 afzonderlijke massa's meer dan 7,5% afwijken van de gemiddelde massa en geen enkele mag meer dan 15% afwijken. In tegenstelling tot alle andere producten onder de vorm van capsules voldeed product 12 niet aan deze eis (afwijkingen +14,7%, +13,8% en -7,7%) (Tabel 2).

In de Ph.Eur. <2.9.40> wordt de uniformiteit van eenheidsdosissen besproken. Deze monografie formuleert eisen aan het gehalte van individuele dosissen voor een steekproef van tien eenheden. Voor toedieningsvormen waarbij de hoeveelheid actieve stof 25 mg of meer bedraagt, zoals bij deze glucosaminepreparaten, is de bepaling van de massavariatie voldoende. Hiervoor worden 10 tabletten of de inhoud van 10 capsules gewogen. De hoeveelheid actief bestanddeel in elke eenheid, rekening houdend met elk individueel gewicht, wordt berekend en uitgedrukt als percentage van de label claim. Daarna wordt de acceptance value AV berekend: $AV = |M-X| + ks$ (X = gemiddelde van de individueel geschatte gehalten uitgedrukt als percentage van de label claim, M = referentiewaarde, $M = X$ met een maximum van 101,5% en een minimum van 98,5%, k = acceptatieconstante waarbij $k = 2,4$ voor 10 eenheden en s = standaarddeviatie). De Ph.Eur. eist dat voor 10 eenheden de AV-waarde maximaal 15,0 bedraagt. Dit betekent dat, wanneer X meer dan 1,5% afwijkt van de label claim, $|M-X|$ groter is dan 0, zodat de standaarddeviatie kleiner moet zijn om toch te voldoen aan de voorwaarden. Wanneer $AV > 15,0$ moet er een tweede steekproef gebeuren op 20 extra eenheden en wordt de AV bepaald op 30 eenheden. Bij deze berekening is $k = 2,0$. Er wordt voldaan aan de eisen van de Ph. Eur. als voor 30 eenheden de AV-waarde maximaal 15,0 is en geen enkel individueel gehalte kleiner is dan 0,75M of groter is dan 1,25M.

Voor alle geteste eenheden werd voldaan aan de eisen van de Ph.Eur. (Tabel 2).

2.2 Uiteenvalbaarheid

Voor de uiteenvalbaarheid van filmomhulde tabletten en capsules eist de Ph.Eur. dat 6 eenheden binnen 30 min uiteenvallen in water bij 37 °C.

Voor product 7 viel de laatste tablet pas uiteen na 41 min. Wanneer de 6 tabletten niet binnen de voorziene tijd uiteenvallen, vraagt de Ph.Eur. de test te herhalen op 6 tabletten in HCl 0,1 M. De laatste tablet viel in zuur milieu

Tabel 2 - Gehalte- en gewichtsspreiding van de onderzochte producten

Nr.	Gemiddelde massa (mg/tablet)	Gelijkmatigheid <2.9.5> Max. 2 tabl >5 %		Massavariatie <2.9.40> AV ≤ 15,0
		Min [%]	Max [%]	AV
Tabletten				
1	1749,9	1,60%	0,90%	2,4
2	2270,2	1,30%	1,40%	3,9
3	2152,5	2,30%	2,70%	3,8
4	1037	1,40%	1,60%	4,4
5	1994,9	1,60%	1,40%	1,8
6	1203,9	1,20%	1,10%	8,4
7	1872,3	1,80%	2,00%	5,8
8	1423,3	1,30%	1,30%	1,5
9	1256,7	1,90%	1,30%	1,5
10	1650,5	0,80%	0,80%	1,6
Nr.	Gemiddelde massa (mg/capsule)	Gelijkmatigheid <2.9.5> Max. 2 caps >5 %		Massavariatie <2.9.40> AV ≤ 15,0
		Min [%]	Max [%]	AV
Capsules				
11	839,2	1,90%	2,90%	5,4
12	969,6	7,70%	14,70% 13,80%	20,7 (n=10) 11,9 (n=30)
13	810,9	2,70%	5,90%	6,6
14	676,7	2,90%	4,80%	4,9
15	693,9	4,40%	6,90%	7,5

Tabel 3 - Uiteenvalbaarheid van de onderzochte tabletten en capsules

Nr.	Uiteenvalbaarheid < 30 min in H ₂ O 37°C	
	Tablet 1	Tablet 6
1	19'16"	26'20"
2	9'51"	11'42"
3	13'25"	14'55"
4	1'31"	2'24"
5	14'55"	23'01"
6	14'56"	17'19"
7	26'53" 27'26" (HCl 0,1 N)	41'18" 35'11" (HCl 0,1 N)
8	-	-
9	12'34"	18'06"
10	10'21"	12'56"
	Capsule 1	Capsule 6
11	5'28"	7'13"
12	3'50"	5'07"
13	3'34"	5'16"
14	3'19"	4'02"
15	1'43"	2'58"

uiteen na 35 min, product 7 voldeed dus niet aan de eis van de Ph.Eur. (Tabel 3).

Product 8 bevat tabletten met verlengde werking. Voor deze galenische vorm is geen uiteenvalbaarheidstest voorgeschreven.

2.3 Gehaltebepaling

De methode voor de gehaltebepaling van glucosamine werd voorafgaand gevalideerd volgens internationale richtlijnen betreffende lineariteit, precisie (herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid), juistheid, selectiviteit, kwantificatielimiet en detectielimiet.

Het gehalte in de verschillende eenheden werd bepaald ten opzichte van de standaard Gsulfaat-2NaCl (Fagron, lot 09E18-B01, zuiverheid 100,1%).

Alle analyses werden uitgevoerd in drievoud op een hoge druk vloeistofchromatograaf (Waters, type Alliance) en detectie gebeurde met Evaporative Light Scattering Detector (ELSD, Alltech, type 3300). De scheiding gebeurde op een HPLC-kolom die geschikt is voor de analyse van suikers, nl. een Prevail Carbohydrate ES kolom (250 x 4,6 mm, 5 µm). Dit type kolom is optimaal in combinatie met ELSD en onderscheidt zich van andere amino-kolommen door zijn robuuste polymeer bindingstechnologie waardoor er een stabiele basislijn en betere piekvormen verkregen worden. De kolomtemperatuur werd ingesteld op 30 °C en de stalen werden gethermostatiseerd op 21 °C. De mobiele fase was samengesteld uit acetonitrile en water. De gradiëntelutie werd gestart met 90% acetonitrile en 10% water. In een tijdspanne van 15 min werd naar 65% acetonitrile en 35% water gegaan. Na 1 min werd teruggekeerd naar de beginsamenstelling waarop gedurende 6 min geëquilibreerd werd. Het debiet over de kolom was 1 mL/min en het injectievolume was 10 µL. De instellingen van de ELSD waren de volgende: temperatuur 40 °C, gasdebiet 1,5 L/min en gain 4.

Aangezien ELSD een logaritmische respons heeft, werd de gehaldebepaling uitgevoerd ten opzichte van een ijklijn (4 punten tussen 0,2 mg/mL en 0,6 mg/mL G) die logaritmisch berekend werd.

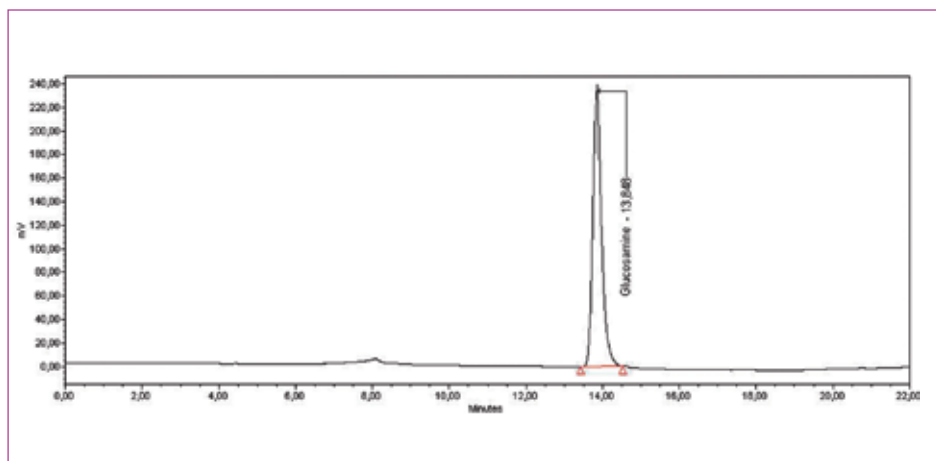
Voor de bereiding van de testoplossing werd een poedermengsel gemaakt van 20 tabletten of de inhoud van 20 capsules gemengd. Hiervan werd in drievoud een hoeveelheid staal afgewogen en opgelost in water zodat een concentratie van 0,4 mg/mL G verkregen werd.

In figuur 1 is er een voorbeeld-chromatogram van een testoplossing. De retentietijd bedroeg ongeveer 14 min. De resultaten zijn samengevat in tabel 4. Om de gehalten gemakkelijk te kunnen vergelijken zijn alle resultaten ook uitgedrukt als glucosaminebase.

Voor de beoordeling van de conformiteit van de gevonden gehalten werden volgende normen gehanteerd:

- voor het geneesmiddel (product 15): het gehalte moet binnen de limieten van 95,0% - 105,0% van de theorie vallen;
- voor de voedingssupplementen: het gehalte moet binnen de limieten van 90,0% - 110,0% van de theorie vallen, zoals beschreven in de USP voor 'dietary supplements'.

Figuur 1 - Chromatogram van een testoplossing



Enkel de gehalten van product 11 en 13 vertonen een grote afwijking van de claim: respectievelijk 72,9% en 77,7%. Beide producten claimen als gehalte 750 mg Gsulfaat, maar beide firma's hebben na aanschrijven laten weten dat dit een fout op de verpakking is en dat dit Gsulfaat-2KCl moet zijn. Wanneer men hiermee rekening houdt, bedraagt het gehalte respectievelijk 96,7% en 103,1%. Zowel het geneesmiddel als alle andere voedingssupplementen voldeden aan de vooropgestelde normen (resultaten tussen 91% en 104%).

Wanneer het gevonden gehalte in de verschillende preparaten identiek wordt

uitgedrukt, nl. als glucosamine, dan variëren de dosissen tussen 406 en 1270 mg glucosamine per eenheid.

Tabel 4 - Gehalte aan glucosamine in de onderzochte producten

Product Nr.	Theorie (mg/eenheid)				Bepalingen (n = 3)						
	Gsulfaat-2KCl	Gsulfaat	G-HCl	G	Gsulfaat-2KCl	Gsulfaat	G-HCl	G	RSD	%	
1			1500				1528	(1270)	0,6	101,9	
2		1500				1432		(1124)	0,2	95,5	
3		1500				1501		(1178)	1,0	100,1	
4	750				720			(426)	0,6	96,0	
5	1500				1476			(873)	1,1	98,4	
6	800				729			(572)	0,1	91,1	
7			1500				1426	(1185)	0,5	95,1	
8		750				735		(577)	0,04	98,0	
9		750				760		(597)	0,5	101,3	
10	1500				1469			(872)	0,3	97,9	
11		750				547		(429)	0,5	72,9	
12	885				830			(491)	1,3	93,8	
13		750				583		(459)	0,4	77,7	
14		500				521		(410)	1,9	104,2	
15				400				406	0,9	101,5	

3. Besluit

Product 15, het geneesmiddel in de studie, voldeed aan de eisen van de Ph.Eur. voor gelijkmatigheid van massa, uniformiteit van eenheidsdosissen en uiteenvalbaarheid. De gebruikte grondstof was Gsulfaat-2KCl maar de overeenkomstige hoeveelheid uitgedrukt als glucosamine is ook opgegeven. Het gevonden gehalte ligt binnen 95% - 105% van het theoretisch gehalte (101,9%).

Bij de voedingssupplementen is de dosis meestal uitgedrukt als de gebruikte grondstof (Gsulfaat-2KCl of G-HCl), soms is de omrekening van Gsulfaat-2KCl naar Gsulfaat duidelijk vermeld. Voor producten 2, 8, 11 en 13 is het gehalte uitgedrukt als Gsulfaat zonder vermelding van de gebruikte grondstof.

Product 12 voldeed niet aan de eisen van de Ph.Eur. voor de gelijkmatigheid van massa. Wanneer de nieuwe methode van Ph.Eur. <2.9.40> voor de uniformiteit van eenheidsdosissen werd toegepast, was de AV voor n = 10 groter dan de norm maar de AV-waarde voor n = 30 was wel conform.

Wat de uiteenvalbaarheid betreft waren alle voedingssupplementen conform, behalve product 7.

Enkel bij de supplementen 11 en 13 lag het gehalte aan glucosamine buiten de 90% - 110% norm, maar dit zou volgens de firma te wijten zijn aan een foutieve labeling.

Correspondentie

Dr. Apr. Jozef Corthout, Dienst voor Geneesmiddelenonderzoek, APB, Stevinstraat 137, 1000 Brussel

jozef.corthout@apb.be

Referenties

1. European Pharmacopoeia – Pharmacopée Européenne 7; 2.9.1, 2.9.5, 2.9.40
2. European Pharmacopoeia – Pharmacopée Européenne 7: Glucosamine hydrochloride; 01/2012:2446
3. European Pharmacopoeia – Pharmacopée Européenne 7: Glucosamine sulfate sodium chloride; 01/2012 :2447
4. USP 34 : Glucosamine sulfate potassium chloride, 1167; Glucosamine tablets, 1166.
5. Massart DL et al. Vandeginste BGM en Rutan SC, editors. In: Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Elsevier, 1997.
6. Validation of analytical procedures – Guideline for OMCLs, PA/PH/OMCL (05) 47.

Wenst u ook te publiceren in het Farmaceutisch Tijdschrift?
Neem contact op met Isabelle De Wulf,
via isabelle.dewulf@apb.be