

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

IRRITACION PROVOCADA POR VEHICULOS NO
ACUOSOS EMPLEADOS EN INYECTABLES

T E S I S
Q U E P A R A O B T E N E R
E L T I T U L O D E
Q U I M I C O F A R M A C O B I O L O G O
P R E S E N T A
M A . D E L O U R D E S R O M E R O M A R T I N E Z

313



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis
ADQ. 1975
FECHA
PROC. H.C. 2937



QUIMICA

Jurado Asignado:

Presidente. Ma. del Consuelo Hidalgo Mondragón

Vocal. Etelvina Medrano de Jaimes

Secretario. Juan José Mañdoki Weitzner

1^{er} Suplente. Rafael Zendejas Guizar

2^o Suplente. Teresa Reguero Reza

Sitio donde se desarrollo el tema:

Departamento de Bioquímica y Bio-

física de la Escuela Superior de

Medicina. I.P.N.

Sustentante: Ma. de Lourdes Romero Martínez

Asesor del tema: Q.F.B., Ma. del Consuelo Hidalgo M.

Supervisor técnico: Q.F.B., Ma. de J.M. de Garispain

Dr. Ricardo Yañez A.

Con profundo cariño y gratitud
a mis padres:

Sra. Victoria Martínez de R.

Sr. Prisciliano Romero T.

A mi hija:

Patricia

A mis hermanos:

Guadalupe

Juan José

Raúl, y

Carlos

Con agradecimiento a mis
maestros y compañeros.

A mis amigos.

A la Sra.Q.F.B.,Ma.de J.M.de Garisoain.
Al Sr.Dr.en Bioquímica,,Ricardo Yañez A.
Al Sr.Q.,Juan Sinosian A., por su orien-
tación y colaboración brindada en la -
elaboración del presente estudio.

I N D I C E.

- I. INTRODUCCION.
- II. GENERALIDADES.
- III. MATERIAL Y METODOS.
- IV. RESULTADOS Y DISCUSION.
- V. CONCLUSIONES.
- VI. BIBLIOGRAFIA.

I. INTRODUCCION.

Es de todos conocido el hecho de que cuando a una persona se le aplica una inyección y con el tiempo siente inflamación o dolor en la zona, lo atribuye, generalmente, a que se le aplicó indebidamente la inyección pero nunca a la solución en sí.

Como farmacéuticos, sabemos que la naturaleza de la irritación, causada por una solución inyectable, depende de varios factores entre los que se cuentan los siguientes: la presión osmótica, la densidad, el volumen, el pH de la solución, el fármaco en particular y/o la composición del vehículo.

La mayoría de los productos parenterales son preparados preferiblemente como soluciones porque evitan la desventaja inherente de las suspensiones y emulsiones, tales como dosificación no uniforme, sedimentación compacta (caking) - y, posiblemente, una liberación demasiado lenta del principio activo, con menoscabo de la biodisponibilidad; en consecuencia, el formulador tiene que hacer uso del vehículo no acuoso, incluyendo a la vez aquellos que son miscibles e inmiscibles con el agua (Spiegel, 1963).

Sin embargo, se ha reportado que algunos disolventes causan lesiones tisulares del tipo de necrosis isquémica, - las cuales se caracterizan como una inflamación química moderada (Kuna, 1947; Smyth, 1947, 1950; Carpenter, 1952; -- Platcow, 1954; Spiegel, 1963; Riffkin, 1964; Drill, 1971; - Martin, 1971); hasta el presente no ha habido reportes firmes sobre este problema en particular; debido a esto, en este estudio se pretende analizar aquellos disolventes no -- acuosos empleados con mayor frecuencia como vehículos en - los productos parenterales, con los siguientes objetivos:

A. Comprobar cuáles disolventes causan lesión tisular y cuáles no.

B. Evaluar, tanto cualitativa como cuantitativamente, el grado de irritación provocado por cada uno de ellos.

C. Determinar si existe una correlación entre el grado de irritación y los diferentes parámetros involucrados: índice de acidez, número de hidroxilo, pH, densidad y la concentración.

D. Aportar al formulador farmacéutico algunos datos que contribuyan a orientarlo a efectuar una buena elección del disolvente no acuoso empleado en productos parenterales.

II. GENERALIDADES.

Los productos parenterales son las formas farmacéuticas estériles que se administran a través de una o más capas de piel o membranas (Parrot, 1970); por las siguientes vías: intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraespinal e intradérmica (Lachman, 1970).

Físicamente, un inyectable se presenta como solución, suspensión o emulsión para administrarse directamente, o en forma de sólidos secos o líquidos concentrados los cuales deberán disolverse o suspenderse en un vehículo adecuado antes de aplicarse.

La respuesta farmacológica de un fármaco administrado por vía parenteral es más rápida y efectiva, que si se administra por vía oral. Una desventaja es el provocar reacciones de sensibilidad con mayor frecuencia que las otras formas de dosificación; por lo tanto, es obligado el que la formulación esté libre de componentes tóxicos y, en su fabricación, observarse condiciones rigurosas de esterilidad.

La formulación de un producto parenteral implica la combinación de uno o más vehículos con un fármaco. Es necesario, para que se incremente la efectividad terapéutica y aceptabilidad del producto, que se deba tener una información previa de la propiedades del fármaco que incluya: peso molecular, solubilidad, pureza, propiedades coligativas y químicas, con la finalidad de eliminar o disminuir a un mínimo las interacciones químicas, incompatibilidad con el disolvente o sistema de disolventes seleccionados y lograr que el producto no provoque, en lo posible alteración tisular (Lachman, 1970).

La naturaleza de la irritación causada por una solución inyectable depende de varios factores entre los que se cuentan los siguientes: el fármaco en particular, el volumen, el pH, la densidad, la viscosidad, la presión osmótica de la solución y/o la composición del vehículo (Parrot, 1970).

Dependiendo del parámetro que provoque la alteración tisular se puede establecer que, el origen de la irritación sea de tipo físico, por ejemplo: la irritación debida a la inserción del aguja en el sitio de aplicación; químico cuando es provocado por un fármaco, ejemplo: Tetraciclina (Shintani, 1967); o fisicoquímico debido al pH (Shintani, 1967).

Al aplicar un irritante al organismo se observan reacciones de tipo vascular y celular, o sea, se presenta el -- proceso de inflamación (Runnells, 1968).

Es interesante poder evaluar el grado de irritación que puede o no provocar una solución inyectable porque la alteración tisular presenta diferentes grados, lo que implica desde un ligero eritema hasta la degeneración del tejido celular en el sitio de aplicación. Las reacciones a un -- irritante pueden agruparse en tres categorías principales, las cuales se siguen una a otra en forma precisa y bien organizada:

I. Cambios circulatorios.

II. Exudación de células y líquidos protectores.

III. Restauración.

Los cambios circulatorios tienen como propósito transportar las defensas del cuerpo al sitio lesionado, de manera que el agente etiológico sea destruido y se repare el tejido, se presentan los siguientes cambios:

Después de la aplicación del irritante al tejido, -- existe una constricción momentánea de los vasos, seguida -- por la dilatación provocada por la acción vasodilatadora de la histamina. Si el irritante es leve habrá desde una ligera hasta una moderada hiperemia, si es muy severo puede presentarse una parálisis de los vasos sanguíneos y una marcada distensión con sangre.

tención con sangre. La vasodilatación se observa en las arterias, venas y, finalmente, en los capilares. Junto con la vasodilatación existe un aumento en la permeabilidad endotelial, y los constituyentes del plasma pasan fácilmente.

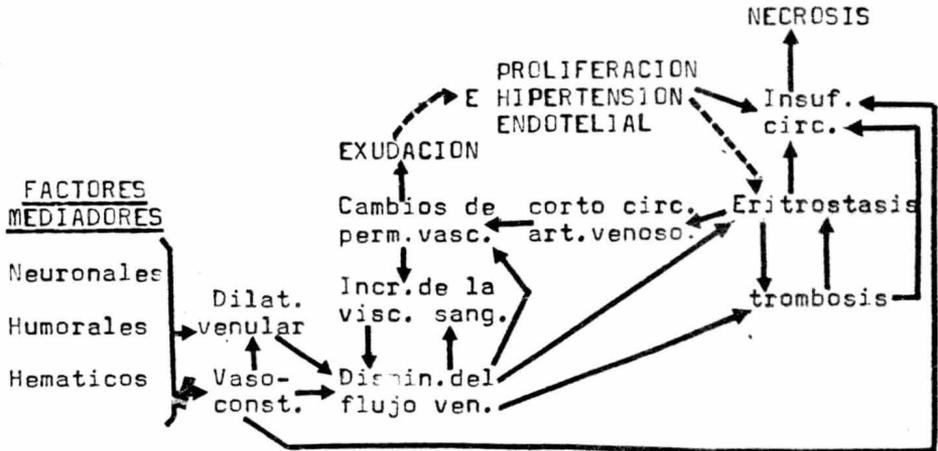


Fig.No.1. Un esquema tentativo de los cambios microcirculatorios que ocurren durante la inflamación (según Kulka).

Cuando las arterias, venas y capilares en un área se dilatan existe, repentinamente, un área grande y, por lo tanto, la sangre fluye más rápidamente. Esta aceleración es sólo temporal y termina cuando los vasos dilatados se llenan de sangre; como consecuencia, se tiene una retardación en la velocidad del flujo; y es, en este momento, cuando se realiza la diapédesis de los leucocitos (Guyton, 1963). Es difícil que los leucocitos alcancen la pared de un vaso que contenga un flujo rápido; al retardarse el flujo, la corriente no acarrea las células y los leucocitos pueden acercarse para adherirse y emigrar a través de ésta. La disminución de flujo se puede deber a el aumento de la capa en los capilares, a la inflamación de células endoteliales, la hemoconcentración

y marginación de leucocitos (fig.No.1)

Existe una redistribución de los elementos celulares, y la marginación de leucocitos en la corriente sanguínea. En el área lesionada se forma una sustancia llamada "leucotaxina", que ejerce una quimiotaxis positiva sobre los leucocitos y hace que fluyan en dirección de la lesión del tejido, por lo tanto, el número de leucocitos en el sitio de inflamación se aumenta considerablemente (Sodeman, 1967; Guyton, 1963) (fig. No.2).

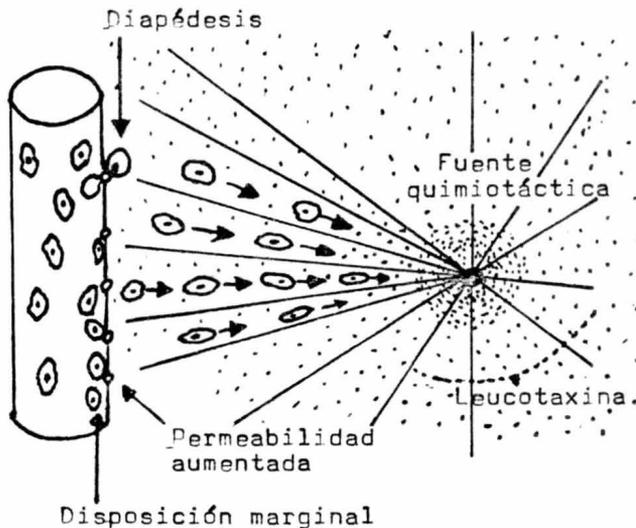


Fig.No. 2 Liberación de leucotaxina por tejido necrótico; permeabilidad, marginación y propiedades quimiotácticas de la leucotaxina.

En el área de inflamación existe acidosis, así como alteraciones en las proteínas, coloides y cristaloides del tejido y una acumulación de los productos catabólicos; todos estos factores aumentan la presión osmótica del tejido y, puesto que los capilares se han vuelto más permeables, existe una gran acumulación de los constituyentes del plasma en la región de inflamación.

El plasma diluye al irritante llevando al interior del tejido los elementos necesarios para la defensa, como los constituyentes, formados de fibrina, para la coagulación; la fibrina rodea y atrapa al irritante formando una zona protectora entre el mismo y las células tisulares sellando, efectivamente, a los linfáticos y evitando, así, la entrada de bacterias; lleva también las defensas humorales del cuerpo al sitio de inflamación, las cuales son fracciones de globulina que contienen a los anticuerpos como: las aglutininas, lisinas, precipitinas y opsoninas que ayudan a los leucocitos a superar al irritante.

Cambios celulares en la inflamación.- Las células que ocurren al área lesionada son: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, células del plasma, macrófagos y células gigantes.

Los leucocitos son necesarios en el área de inflamación para fagocitar al irritante. El punto en el cual los leucocitos pasan a través de la pared del vaso está bien definido como el área donde el capilar y la vena se unen. El leucocito se dirige hacia el irritante mediante movimientos amiboideos; en ocasiones, los eritrocitos que penetran en los tejidos por diapédesis, se observan al pasar a través de la pared aunque no poseen movimiento amiboideo.

Todos los leucocitos atraídos de inmediato a una zona de inflamación son esencialmente neutrófilos; la razón de ello es doble: en primer lugar, los neutrófilos tienen una respuesta quimiotáctica a la leucotaxina mucho más rápida que los demás leucocitos; en segundo lugar, el número de neutrófilos polimorfonucleares en la sangre es mayor que ninguna otra clase de leucocitos. Los eosinófilos, junto con los neutrófilos, aparecen prematuramente en el área de inflamación, estos no se regeneran rápidamente y, por lo general, en

una inflamación aguda desaparecen de la corriente sanguínea, no tienen una función específica, al igual que los basófilos.

Los linfocitos, generalmente, aparecen más bien tarde, entre las 48 y 72 horas. Gradualmente aumentan en número a medida que el proceso continúa y, finalmente, se convierten en uno de los principales componentes celulares de la inflamación crónica.

Los macrófagos, producidos por el sistema retículo endotelial, se denominan monocitos cuando son transportados por la corriente sanguínea. Estos aparecen prematuramente en el proceso pero, por lo general, empiezan a presentarse aproximadamente entre las 48 y 72 horas y, finalmente, se vuelven más numerosos que los neutrófilos. Son las principales células fagocíticas del cuerpo y las que terminan la destrucción del irritante y eliminan el tejido necrótico del área.

El término de célula gigante de reacción a cuerpo extraño no se utiliza para designar a la célula producida por la fusión de macrófagos, debido a que está, frecuentemente, asociada con la presencia de material extraño en los tejidos. Frecuentemente, están presentes en procesos inflamatorios crónicos encontrándose en la periferia del tejido necrótico; de hecho, el tejido alterado se considera como cuerpo extraño en el organismo.

Existe un número muy grande de agentes etiológicos capaces de causar necrosis. Esta palabra proviene del griego -- "nekrosis" que significa mortificación o sea destrucción completa de la vida orgánica de un tejido (Pérez, 1965).

La apariencia que presenta un área de necrosis es como si los tejidos estuvieran coagulados o cocinados. El tejido muerto, generalmente, sobresale del tejido normal circundante: las áreas de necrosis son blancas, amarillas o de color tostado.

do, los bordes de la lesión están agudamente demarcados y rodeados por una zona roja que es la reacción inflamatoria que aparece en el tejido vivo adyacente. El tejido muerto es -- muy frágil y se rompe fácilmente si se le maneja, la ruptura sucede en la unión del tejido vivo y el tejido muerto. Si hay bacterias piogénicas presentes, pueden aparecer abscesos en el tejido necrótico.

La estructura arquitectónica general del tejido necrótico puede mantenerse o no según el tipo de necrosis. Los límites de las células son indistintos o están ausentes. Las células necróticas están hinchadas por aumento en la presión osmótica intracelular antes de la muerte. Debido a los cambios coloidales que ocurren en las células como resultado de la acción irritante, el citoplasma de las células necróticas se tiñe con eosina más intensamente que lo normal, y la coloración nuclear no es tan clara o no se presenta.

Es evidente, que la inflamación llega a ser perjudicial cuando el agente causal es muy severo y provoca la muerte del tejido implicado, debido a que las defensas del cuerpo son superadas, correspondiendo el daño a una reacción de tipo irreversible. También lo es cuando el irritante es de baja intensidad y los tejidos no son estimulados suficientemente para provocar la destrucción y supresión del irritante y, por lo tanto, el curso de la enfermedad es extremadamente largo y no puede terminarse nunca (Runnells, 1968).

Es importante señalar que el daño muscular causado por la administración de un inyectable es de suma importancia para evaluar el grado de irritación, ya que se debe tener en cuenta el no causar una irritación mecánica, provocada por el piquete o el volumen inyectado.

Desde años atrás, experimentalmente, se han venido de-

sarrollando diferentes métodos para evaluar el grado de irritación que puede provocar el fármaco o el vehículo de un inyectable por vía intramuscular, siendo el conejo el animal de prueba; en 1953, un grupo de investigadores realizaron pruebas de irritabilidad en el músculo Vasto lateral seleccionándolo por su relación topográfica con la piel y entidades musculares; en 1961, Hanson selecciona los músculos glúteos; en 1966, Hagan, Benitz y Dambach realizan sus pruebas en el músculo Sacro espinal eligiéndose este sitio de inyección por las razones siguientes:

1. El sitio de inyección se detecta fácilmente.
2. La superficie o el músculo total se disecta fácilmente de otros tejidos.
3. La solución inyectada permanece entre las fibras musculares.
4. Este músculo presenta cuatro regiones inyectables: la región cefálica derecha e izquierda y la región caudal derecha e izquierda (Benitz, 1966) fig.No. 3.

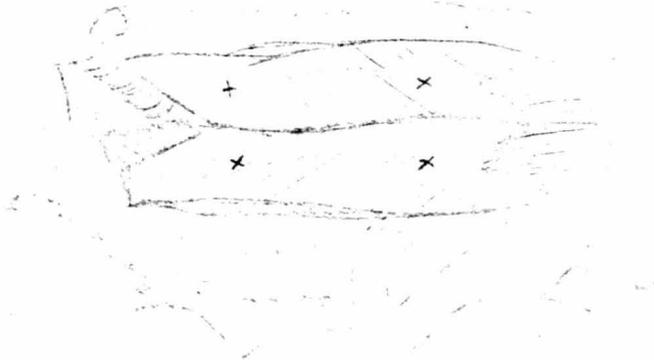


Fig. No. 3 Músculo Sacro espinal, exponiendo la región cefálica y caudal derecha e izquierda, del conejo.

En 1967, Shintani y col., seleccionaron el músculo Vas-

to lateral para la prueba, en este estudio se da una evaluación macroscópica de la lesión tisular que fluctúa entre un rango de 0-5, en la cual el 0 indica que el músculo se encuentra saño, así, como el grado 5 indica una marcada zona de necrosis (Shintani, 1967) fig. No. 4.

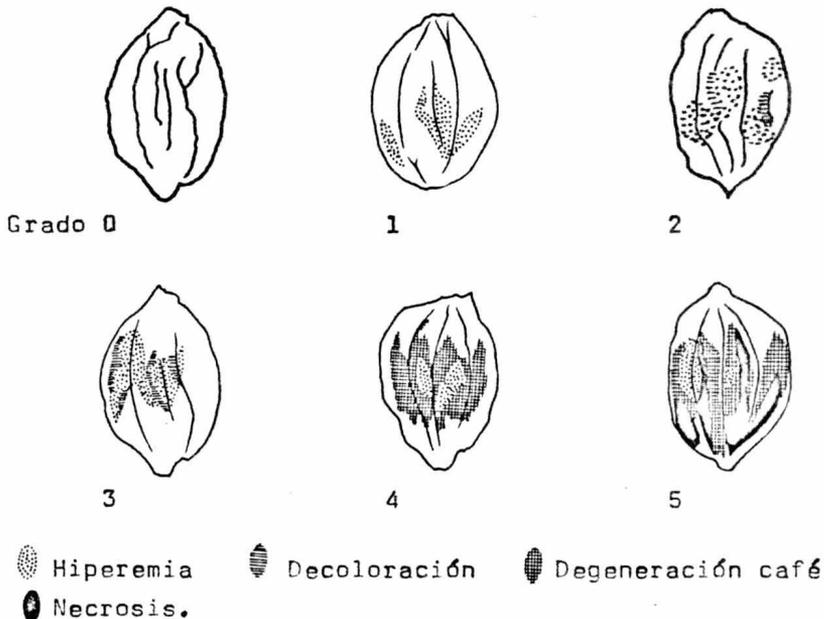


Fig.No. 4. Músculo estriado, en el cual se muestran los diferentes grados de alteración tisular.

Debido a que los sistemas de transporte del cuerpo son acuosos por naturaleza es conveniente, para que exista una concordancia con éstos, que los medicamentos que sean aplicados parenteralmente deban ser preparados en un sistema acuoso; el agua para inyectable U.S.P. es el solvente por excelencia, sin embargo, los fármacos que son solubles en agua sufren, a menudo, reacciones degradativas tales como hidrólisis, oxidación, descarboxilación y racemización; o bien, son inso-

lubles en agua. En estos casos el formulador tiene que recurrir a un sistema de solventes que pueden ser miscibles o inmiscibles con el agua, o sea, lo que llamamos el "solvente - no acuoso", por ejemplo: los derivados del ácido barbitúrico en presencia de agua se hidrolizan fácilmente en un pH bajo. Sin embargo, se ha demostrado que el pentobarbital sódico es soluble y estable en un vehículo que contiene el 60% de poli etilen glicol 400 y 10% de etanol en agua a un pH de 8 (Lachman, 1970).

Otro caso es la testosterona que es insoluble en agua, pero soluble en éter. Sin embargo el éter es altamente irri tante para los tejidos del organismo y no puede ser empleado como solvente único en la preparación del inyectable; debido a esto, la selección de solventes no acuosos debe hacerse - con mucho cuidado, no debiendo ser irritantes, tóxicos, ni - ejercer alguna actividad farmacológica; se debe, además, incluir una evaluación de sus propiedades físicas como: densidad, viscosidad, miscibilidad, polaridad y estabilidad(Reese, 1962).

Los solventes que son miscibles con el agua y que se - usan en combinación con la misma como vehículo, generalmente, son: dioxalona, dimetilacetamida, N-(8-hidroxiethyl) lactami da, 1,3. butilen glicol, polietilen glicol 400 y 600, propi len glicol y, los solventes inmiscibles con el agua como los aceites: miristato de isopropilo y los aceites fijos que, ge neralmente, son mezclas de esterés de ácidos grasos insatura dos de origen mineral y vegetal, de éstos los más empleados son el aceite de maíz, algodón y sésamo.

Cabe mencionar que cuando se administra un medicamento que lleva consigo un vehículo irritante, es necesario tener en cuenta que, en algunas ocasiones, la acción del irritante llega a tal extremo que produce necrosis y la recuperación -

del músculo no es "Ad Integrum"; por lo tanto, es importante - tomar este factor en cuenta y evitar hasta donde sea posible el uso de tales solventes en aquellos medicamentos que se ad ministran en tratamientos prolongados o en productos populares a los cuales el público tiene fácil acceso y de los cuales, no se lleva un control adecuado; el empleo de estos solventes sólo es ético cuando se ha comprobado extensamente la insolubilidad del fármaco en otros solventes y el farmacéuti co se ve en la necesidad de emplearlos pero, únicamente, para aquellos productos que se administran en casos de urgencia y ocasionalmente como es el caso del Diazepam que se administra por vfa parenteral para lograr un control inmediato del paciente en crisis neuróticas o convulsivas.

En 1950, Smyth y col., efectuaron un estudio sobre la toxicidad, por vfa parenteral, de algunos solventes no acuosos del tipo del polietilen glicol de alto peso molecular, - concluyendo que, dosis altas y prolongadas de estos compuestos causan la muerte, por aglutinación, de los elementos celulares (Smyth, 1950).

Carpenter, P. Ch., reportó a los polietilen glicoles - como vehículos para inyectables por vfa intramuscular y subcutánea; investigando la lesión que provoca el polietilen glicol 300 no diluido, utilizó como controles al propilen glicol y al aceite de cacahuete, efectuando las pruebas en ratas; las dosis seleccionadas por vfa intramuscular fueron de 2 y 0.5 ml/Kg, inyectando en el músculo Multifido que se encuentra en la región dorsal; a las 48 hrs. el músculo reve ló una infiltración vascular; el examen del corte transversal mostró que el compuesto había penetrado al interior de los haces musculares y fue llevado longitudinalmente produciendo necrosis de las fibras implicadas. Cuando el compuesto fue inyectado paralelamente a los haces musculares la do-

sis desplazada no penetró en los mismos y no se presentó necrosis, sólo se observó un incremento en la vascularización y proliferación fibroblástica. El examen histopatológico de las áreas que presentaban necrosis revelaron desplazamiento de las células nucleadas e infiltrado de células inflamatorias, pero sin evidencia de algún exudado purulento. La reacción fue caracterizada como transitoria puesto que no hubo evidencia de la lesión a los 14 días después de la aplicación, por lo tanto, la reacción fue considerada como una inflamación química suave. Las reacciones tisulares provocadas por el propileno glicol fueron idénticas a las descritas para el polietileno glicol 300, por lo tanto, producen respuestas distinguibles en grado. El aceite de cacahuate causó, aparentemente, una obstrucción de las estrias en el músculo, pero no se presentó ninguna infiltración de células inflamatorias (Carpenter, 1952).

Platcow y Voss, en 1954, estudiaron la irritabilidad del miristato de isopropilo en conejos y determinaron que este vehículo muestra un grado muy bajo de irritabilidad y no exhibe propiedades de sensibilidad por vía parenteral (Platcow, 1954).

Si se emplearan en la formulación de productos estériles únicamente el fármaco y el solvente adecuado se observa que, después de un tiempo, se presentan alteraciones en el producto, las cuales pueden ser debidas a una posible contaminación microbiana durante su fabricación, o bien, a reacciones degradativas, a cambios de pH o de viscosidad, etc., esto, naturalmente, sería para el fabricante contraproducente, ya que no se lograría una buena efectividad terapéutica y presentación del mismo, lo cual, le acarrearía pérdidas económicas; por lo tanto, el formulador se ve en la necesidad de adicionar cierto tipo de sustancias que eviten hasta

donde sea posible todo tipo de alteración.

Los aditivos empleados deben cumplir con los siguientes requisitos: a.- tener una buena efectividad microbiana en el caso de agentes antimicrobianos; b.- ser efectivos en concentraciones pequeñas; c.- no ser tóxicos y d.- no intervenir en la eficacia terapéutica (Parrot, 1970). Estos aditivos o preservativos incluyen agentes antibacterianos o antifúngicos, antioxidantes, quelantes, solubilizantes y agentes reguladores de pH y tonicidad (Martín, 1971).

Las soluciones reguladoras se adicionan para mantener el pH requerido en muchos productos, un cambio en el pH puede causar alteraciones significativas en la velocidad de las reacciones degradativas pudiendo, estas mismas soluciones contribuir a mantener la tonicidad del producto (Martín, 1971). Una preparación no puede ser considerada como isotónica hasta que se prueba en un sistema biológico. Comúnmente se emplea el método de hemólisis que se realiza con glóbulos rojos (Setnikar, 1959).

Los agentes antibacterianos, en concentraciones bacteriostáticas, deben incluirse en la formulación de productos envasados en viales de dosis múltiple. Los líquidos de perfusión no deben contener preservativos porque, debido a que se aplican grandes volúmenes, el contenido total del mismo sería alto y causaría daño. Para los inyectables envasados en viales de dosis múltiple es necesario adicionar preservativos para matar y prevenir el crecimiento de los microorganismos que puedan ser introducidos durante la toma de una dosis. El volumen máximo en un recipiente de dosis múltiple es generalmente de 30 ml; si la aplicación es mayor de 5 ml, se requiere un gran cuidado en la elección y contenido del preservativo. Cuando sólo se va a efectuar una dosificación no es necesario la presencia de estos productos.

Los ésteres del ácido p-hidroxibenzoico se utilizan para obtener el efecto antimicrobiano deseado, el metil y propil p-hidroxibenzoico se emplean, generalmente, en una proporción de 10 a 1 respectivamente (Martín, 1971).

Los antioxidantes, se incluyen en muchas formulaciones para proteger al agente terapéutico de oxidaciones, particularmente, bajo condiciones aceleradas de esterilización térmica. La cantidad máxima de antioxidante utilizada en inyectables es de 0.2%.

Una suspensión farmacéutica, es una dispersión de sólidos finos en un medio líquido; pueden ser de uso oftálmico, oral, parenteral y tópico. La estabilidad física de una suspensión esta relacionada con la sedimentación, caking y re-suspensión; no deben sedimentarse rápidamente y deben ser fluidos para facilitar su administración.

Son sistemas muy inestables debido a que las partículas sedimentadas tienden a formar una masa compacta o un cristal duro, en consecuencia, el farmacéutico se ve en la necesidad de emplear agentes activos de superficie que, en presencia de un hidrocoloide como la polivinilpirrolidona, se logra reducir la sedimentación al mínimo, de manera que, se obtenga una fácil dispersión de las partículas por agitación. Algunos agentes activos de superficie ayudan en la preparación y estabilización de una suspensión por la reducción de la tensión superficial entre las partículas y el vehículo, entre estos se encuentran el polisorbato 80 y las lecitinas, siendo las más usuales en las suspensiones inyectables.

De lo anteriormente dicho se comprueba la importancia de tales solventes y aditivos en la formulación de los productos parenterales y, por lo tanto, el farmacéutico debe tener una orientación sobre la irritabilidad que puedan provocar los mismos.

III. MATERIAL Y METODOS.

Se analizaron 11 muestras de disolventes no acuosos y 3 de aditivos; la selección de los mismos estuvo supeditada a la incidencia de su empleo en la preparación de productos estériles, de acuerdo con los productos reportados en el - Physicians Desk Reference de 1973.

Las muestras para su estudio se ordenaron de la siguiente forma:

DISOLVENTES MISCIBLES CON AGUA.:

Propilen glicol	U.S.P. XVIII
Poliétilen glicol 200	
Poliétilen glicol 300	B.P. 73
Poliétilen glicol 400	U.S.P. XVIII
Poliétilen glicol 600	U.S.P. XVIII
Alcohol etílico	U.S.P. XVIII
Lactato de etilo	
Gliceril formaldehído	

DISOLVENTES INMISCIBLES CON AGUA:

Aceite de sésamo	U.S.P. XVIII
Alcohol bencílico	U.S.P. XVIII
Miristato de isopropilo	U.S.P. XVIII

ADITIVOS:

Metil parabeno	U.S.P. XVIII
Propil parabeno	U.S.P. XVIII
Tween 80	U.S.P. XVIII

Todas las muestras cumplen con las especificaciones oficiales.

Cuando se emplean sistemas de disolventes en la formulación de inyectables, los disolventes participantes se encuentran en diferente proporción, generalmente las concentraciones más usuales están comprendidas entre el 10% y el 70% (Physicians, 1973).

En base a lo anterior, las concentraciones elegidas en este estudio fueron del 25%, 50% y 75% para los disolventes miscibles con el agua; para el alcohol bencílico de 2% y 5%; para los aceites del 100% y para los aditivos del 0.18% y 0.3% en el caso del metil parabeno, del 0.02% y 0.10% para el propil parabeno y del 0.40% y 0.80% para el tween 80.

En todas las soluciones se realizaron las siguientes determinaciones fisicoquímicas: índice de acidez, número de hidroxilo, densidad a la temperatura de 20°C y pH en solución acuosa.

Las determinaciones de acidez, densidad y pH se hicieron de acuerdo al método general especificado en la U.S.P. - XVIII.

El número de hidroxilo se determinó por el método de acetilación catalizado por ácido perclórico (Connors, 1967).

Una vez realizadas las determinaciones fisicoquímicas se procedió a la prueba biológica. Las soluciones para inyectar fueron preparadas en solución salina normal; el testigo fue esta misma solución, no se considero necesario esterilizarlas debido a la rapidez de la prueba.

La dosis utilizada fue de 0.5ml., es necesario aclarar que este volumen se eligió tomando en cuenta el no producir una irritación de tipo mecánica en el músculo del conejo; el sitio de aplicación fue el músculo Sacro espinal, el cual presenta cuatro sitios inyectables: la región cefálica derecha e izquierda y la región caudal derecha e izquierda, como se ha mostrado ya.

Las pruebas se hicieron por duplicado y las soluciones se codificaron con su respectiva concentración y sitio de aplicación.

Durante los dos días posteriores a la inyección se --

palpó la zona inyectada para verificar si hubo inflamación. Se anotaron las características de la piel en el sitio de aplicación, indicando si existen eritema, edema, endurecimiento y/o decoloración. Al tercer día de la inyección se sacrificó al animal y se procedió a disectar el músculo, el cual fue cortado longitudinalmente a lo largo de su línea media exponiéndose así, completamente, la trayectoria de la aguja y observándose la lesión tisular caudada por el vehículo. La primera incisión muestra la superficie del corte principal (fig.5-A y B). Se hizo una segunda incisión a lo largo del diámetro mayor del área dañada a ambos lados de la incisión principal exponiéndose así, completamente la lesión en el músculo (fig. 5- C a E).

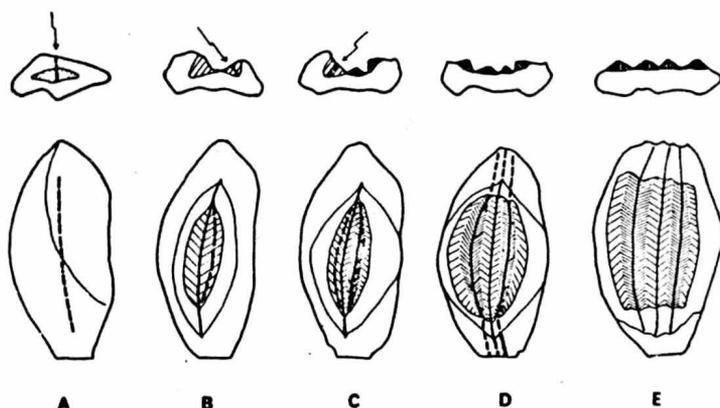


Fig. No.5. Ilustración del proceso de incisión para la evaluación macroscópica de la lesión en el M. Sacro espinal. En la parte superior se muestran los cortes vistos transversalmente y en la parte inferior, longitudinalmente. (A) El músculo cortado a lo largo de su línea media exponiendo el área dañada (B) Muestra la superficie del músculo lesionado al hacer la primera incisión (C) Muestra las incisiones secundarias a ambos lados de la primera (D) Cada incisión es extendida a ambos extremos del músculo y (E) Muestra la superficie disectada del área dañada, completamente. (Shintani, 1967).

Una vez, que se expuso completamente, la lesión provocada por los productos inyectados, se realizó la evaluación macroscópica de la misma, de acuerdo con la siguiente escala (Shintani, 1967) (fig.No.6).

Grado 0. Músculo limpio, sin alteración

Grado 1. Ligeño edema, eritema y decoloración.

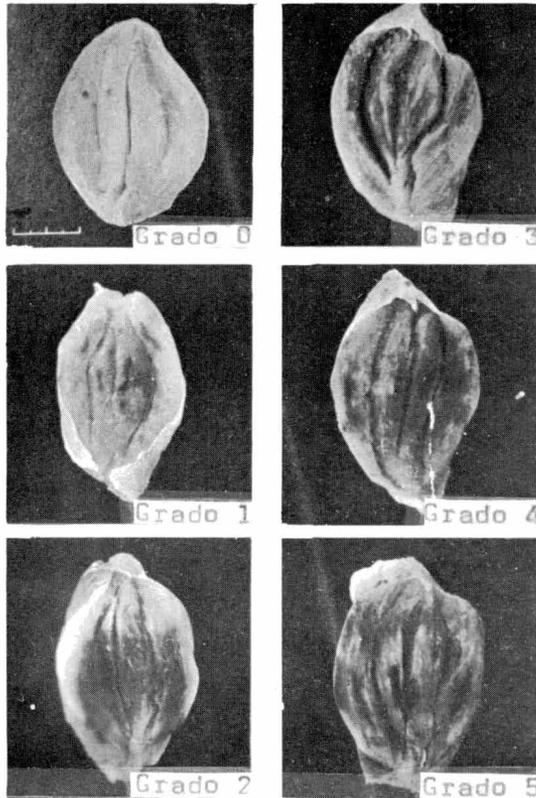


Fig.No. 6. Fotografía que muestra los diferentes grados de alteración a nivel macroscópico

Grado 2. Moderado edema, eritema y decoloración.

Grado 3. Decoloración distinta en comparación con el color del área circundante y probable necrosis.

Grado 4. Regeneración café con necrosis.

Grado 5. Amplia necrosis, con apariencia de carne cocida y, ocasionalmente, un absceso implicando la porción mayor del músculo.

Todas la piezas musculares se colectaron en formol al 10%, debidamente identificadas, para su estudio histopatológico.

En base al estudio histopatológico, se hizo la evaluación microscópica de la lesión tisular provocada por los vehf culos inyectados, de acuerdo con el siguiente criterio:

Grado 0. Tejido sano sin alteración histológica(fig.7).

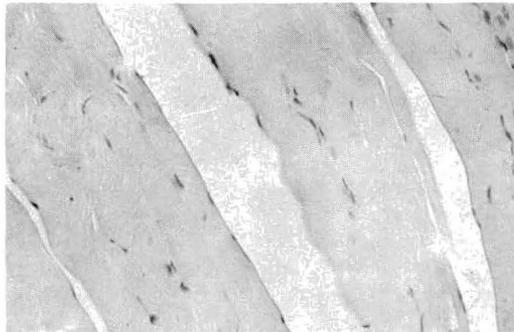


Fig.No.7. Fotografía que muestra al músculo estriado sin alteración, después de la aplicación del aceite de sésamo (Grado 0). 100 X. H.C.

Grado 1. Ligera inflamación, presenta alteraciones como infiltrado discreto de leucocitos, linfocitos y eritrocitos entre las fibras musculares (fig. No.8).

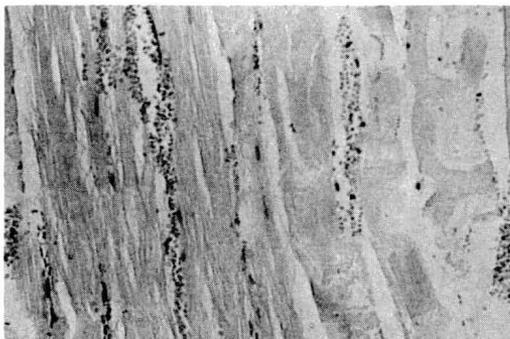


Fig.No.8. Fotografía que muestra en la parte derecha un ligero infiltrado de células mononucleares, edema y colapso de las células musculares estriadas, por la aplicación del mirista de isopropilo (Grado 1) 25 X. H.E.

Grado 2. Inflamación no específica o necrosis ligera, observándose hialinización y necrosis de algunas fibras musculares e infiltrado celular (fig.No.9).

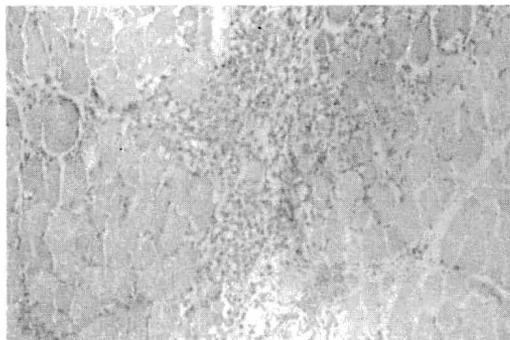


Fig.No.9. Fotografía que muestra infiltrado difuso de células mononucleares con ligera destrucción de células musculares, provocado por el alcohol etílico al 25% (Grado 2) 25 X H.E.

Grado 3. Necrosis zonal, observándose zonas de necrosis, hemorragia e infiltrado de monocitos, macrófagos y pequeñas zonas de calcificación (Fig. No.10).

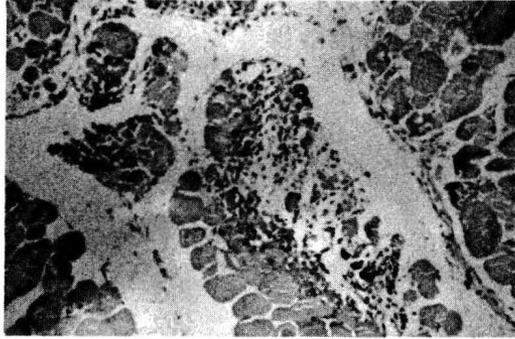


Fig.No.10. Fotografía que muestra al músculo estriado con zonas de necrosis central con extensión a los bordes, edema e infiltrado inflamatorio e importante congestión en la periferia, provocada por el alcohol etílico al 50% (Grado 3) 25 X.

Grado 4. Necrosis marcada, alteraciones en el músculo estriado con extensa área de necrosis, coagulación y congestión periférica (Fig.No.11).

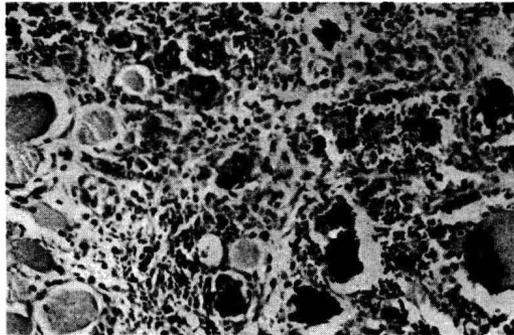


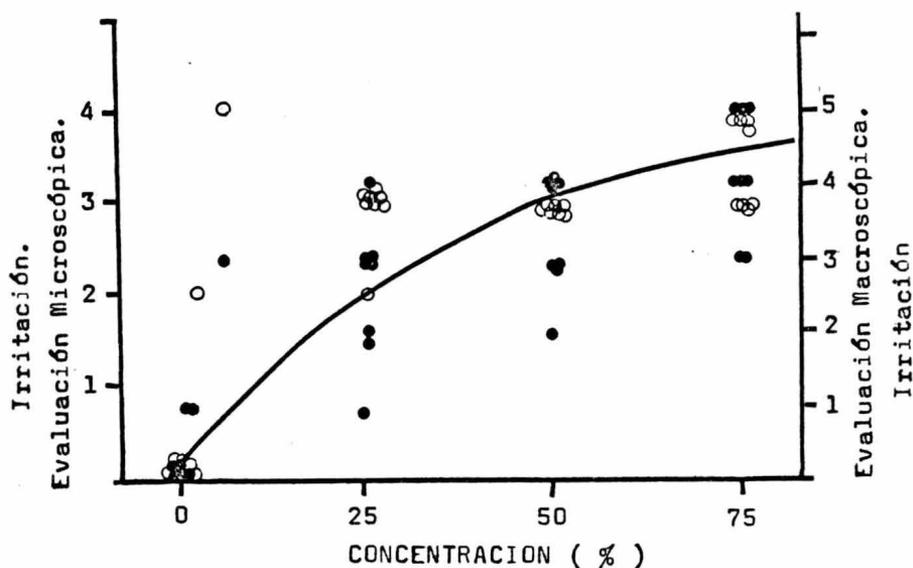
Fig.No.11 Fotografía que muestra una basta zona de destrucción del tejido muscular, edema con abundante infiltrado celular, hemorragia difusa y tendencia a formar células gigantes, provocado por el propileno glicol al 75% (Grado 4) 25 X. H.E.

Posteriormente, se reunieron los datos y se analizaron obteniéndose los resultados expresados a continuación

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

Todos los productos cumplen con las especificaciones oficiales.

En la gráfica No.1 se observa un aumento de la irritación, proporcional al aumento en la concentración del disolvente o aditivo; en la tabla No.1 se expresan los resultados obtenidos en cuanto a la irritación producida por la aplicación de aceites puros; como se observa, la irritación es - prácticamente nula, estos datos no se utilizaron al dibujar la gráfica No.1 pues se crearía confusión al tener un descenso brusco en la misma.

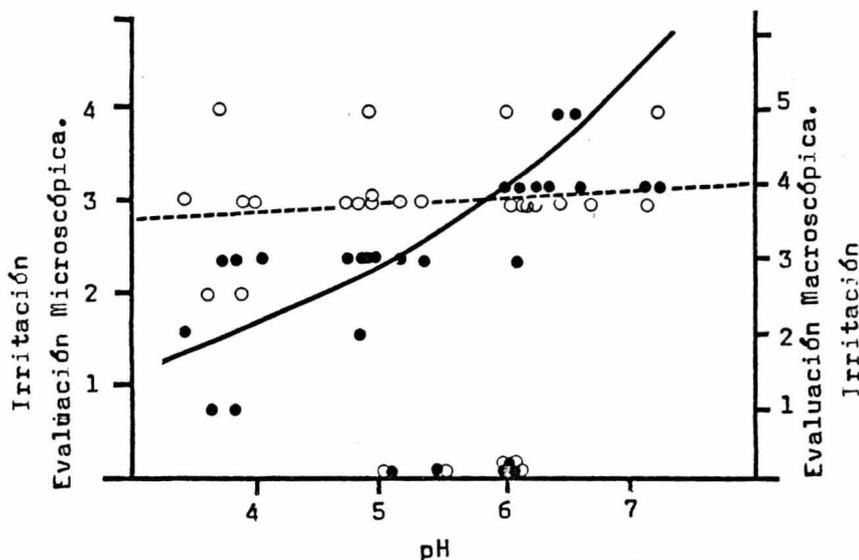


- Evaluación Microscópica.
- Evaluación Macroscópica.

Gráfica No.1. Concentración del disolvente Vs irritación evaluada por el método macroscópico y microscópico.

PRODUCTO	CONCENTRACION (%)	EVALUACION	
		MACROSCOPICA	MICROSCOPICA
ACEITE DE SESAMO	100	0	0
MIRISTATO DE ISO PROPILO	100	0	1

Tabla No.1 Relación de los datos de irritación provocada por los aceites.



○ Evaluación Microscópica.

● Evaluación Macroscópica.

Gráfica No.2 pH de las soluciones Vs irritación evaluada por el método macroscópico y microscópico.

Los datos de irritación microscópica tienden a agruparse en línea continua; aparentemente no hay relación entre el pH y la irritación sin embargo, se ha demostrado que la solución normal a un pH de 2.1 o de 12 provoca una irritación muscular moderada, mientras que, las soluciones entre un pH de 2.5 a 11 muestran una irritación suave, a las 24 hrs. - después de su aplicación (Shintani, 1967).

La evaluación macroscópica, en forma contraria a lo que podría esperarse de acuerdo con lo dicho anteriormente, muestra una irritación más marcada cuando el pH se aproxima a 7, esto se debe a que las diluciones mayores presentaron un pH más ácido (tabla No.2); este comportamiento se presenta cuando se realizan las determinaciones en potenciómetros con electrodos standard de calomel pues el coeficiente de actividad H no tiene el mismo significado en los solventes no acuosos. Para obtener el pH verdadero de estas soluciones, sería necesario hacer modificaciones en las celdas y electrodos empleados tradicionalmente en la determinación del mismo, lo cual no es factible económicamente en la industria farmacéutica. Además de que los valores de pH obtenidos en potenciómetros standard se correlacionan comparativamente con los reales y siempre son reproducibles a la dilución indicada (Mattock, 1961). Es de hacerse notar que el pH de las sustancias nominadas como aditivos, no varía con la concentración (tabla No.3).

En ninguno de los casos, al evaluarse la acidez en los problemas utilizados, se registraron gastos mayores de 0.5 ml lo cual es completamente aceptable para un producto parenteral. Al tratar de graficar la irritación producida contra la acidez se obtuvieron resultados completamente erráticos sin discusión posible, aparentemente.

PRODUCTO	DILUCION		
	75%	50%	25%
PROPILLEN GLICOL	6.45	6.60	7.10
ALCOHOL ETILICO	6.40	6.25	6.05
POLIETILEN GLICOL 200	5.95	4.90	4.90
LACTATO DE ETILO	4.90	4.80	3.40
POLIETILEN GLICOL 300	7.20	6.15	5.35
GLICERIL FORMALDEHIDO	6.03	5.85	5.25
POLIETILEN GLICOL 400	6.25	4.70	3.80
POLIETILEN GLICOL 600	5.15	4.00	3.60

Tabla No.2 pH que presentan los disolventes a diferentes diluciones.

En la gráfica No.3, donde se relaciona la irritación, - valorada macroscópica y microscópicamente, contra el número de hidroxilo anotado, en escala logarítmica debido a que el número de hidroxilo de los productos estudiados fueron muy -- amplios; se observa que hay una tendencia clara de los puntos a agruparse, tanto de una como de otra valoración; se observa una menor irritabilidad cuando el número de hidroxilo es menor de 100 y que ésta va aumentando gradualmente cuando el valor es mayor de 100, haciéndose más marcada la irritación cuando el valor se acerca a 1000. Esto es muy sugestivo y - nos muestra una relación indiscutible entre estos dos parámetros.

En la tabla No.4, se presentan los solventes miscibles con el agua ordenados en forma decreciente con respecto al - número de hidroxilo, se observa que existe una disminución - gradual de la irritación, es necesario hacer notar que en - las diluciones se observa el mismo orden de los productos; - este orden es constante en las diferentes concentraciones - aunque, si se acomodaran estos datos independientemente de las concentraciones, considerando sólo el número de hidroxilo no se obtendrían resultados tan ideales; esto sólo se puede aclarar haciendo un estudio más extensivo sobre los mismos - solventes.

Debe hacerse notar que, acomodando de la misma forma - las determinaciones macroscópicas, no se observan los mismos resultados aunque existe una tendencia a agruparse en forma similar; esto puede deberse a que, en algunas ocasiones, el área dañada presentaba hemorragias, vasoconstricción, coagulación, etc., y por lo tanto, estos factores pueden influir en el ánimo del evaluador, cuando no se tiene suficiente experiencia, y falsear en mayor o menor grado, al considerar la gravedad de la lesión; en estos casos, nos encontramos con - que la evaluación no es tan eficiente como debería.

PRODUCTO	DILUCION AL 75 %			DILUCION AL 50 %			DILUCION AL 25 %		
	NUMERO DE EVALUACION HIDROXILO MACRO. MICRO.			NUMERO DE EVALUACION HIDROXILO MACRO. MICRO.			NUMERO DE EVALUACION HIDROXILO MACRO. MICRO.		
PROPILLEN GLICOL	1017.30	5	4	678.20	4	3	339.10	4	3
ALCOHOL ETILICO	879.15	5	3	586.10	4	3	293.05	3	3
PEG.200	425.64	4	4	283.76	3	3	141.08	3	3
LACTATO DE ETILO	347.20	3	4	231.50	2	3	115.70	2	3
PEG.300	282.07	4	4	188.05	4	3	94.02	3	3
GLICERIL FORMALDEHI DO	192.94	5	3	128.63	4	3	64.31	2	3
PEG.400	192.95	4	3	128.64	3	3	64.32	3	3
PEG.600	140.90	3	3	93.95	3	3	46.97	1	2

Tabla No. 4 Donde se agrupan los disolventes en orden decreciente a su número de hidroxilo; aqui se percibe un ordenamiento lineal del grado de irritación microscópica, a diferentes diluciones de los disolventes, mientras que la evaluación macroscópica sólo muestra una cierta tendencia.

PRODUCTO	%	No. HIDROXILO	E. MACRO.	E. MICRO.
ALCOHOL BENCILICO	5	26.99	3	4
	2	10.80	1	2
ISOPROPIL MIRISTA TO	100	17.14	0	1
ACEITE DE SESAMO	100	16.96	0	0
TWEEN 80	0.8	7.83	0	0
	0.4	3.91	0	0
METIL PARABENO	0.3	1.02	0	0
	0.18	0.61	0	0
PROPIL PARABENO	0.10	0.32	1	2
	0.02	0.06	0	0

Tabla No. 5 Datos de irritación que muestran las diferentes diluciones de los aditivos y aceites, con respecto a su número de hidroxilo.

En la tabla No.5 se complementan los resultados expresados en la tabla No.4; como se observa, las diluciones que presentan un número de hidroxilo bajo, generalmente presentan menor irritación llegando, incluso a ser nula; sobresale, entre los datos de la tabla, la alta irritación producida por el alcohol bencílico en concentraciones bajas; debe aclararse que este producto se administró emulsionado finamente con agua y puede pensarse en una separación de fases posterior a la administración; de cualquier manera, las cantidades netas inyectadas son sumamente pequeñas (0.01 ml y 0.025 ml), lo que nos muestra un gran poder irritante de este producto, lo cual lo hace comparable, en irritación, al propilenglicol y al alcohol etílico; en vista de esta situación y, con el objeto de comprobarlo, se administró diluido con aceite de sésamo del cual se vio anteriormente su completa inocuidad, presentándose el mismo grado de irritación.

Conforme a los datos proporcionados anteriormente, se da una lista tentativa que agrupa las sustancias estudiadas de acuerdo al grado de irritación visto, comparativamente, en sus diversas diluciones.

PROPILEN GLICOL
ALCOHOL ETILICO
POLIETILEN GLICOL 200
ALCOHOL BENCILICO
LACTATO DE ETILO
POLIETILEN GLICOL 300
GLICERIL FORMALDEHIDO
POLIETILEN GLICOL 400
POLIETILEN GLICOL 600
PROPIL PARABENO
METIL PARABENO
TWEEN 80
MIRISTATO DE ISOPROPILO
ACEITE DE SESAMO.

Con esto, se espera dar una orientación positiva al formulador de productos parenterales; sobre todo, es recomendable considerar el número de hidroxilo final en el producto, aunque esto va supeditado a la ejecución de estudios más extensivos sobre el particular, para su comprobación determinante.

V. CONCLUSIONES.

1. Existe una relación definitiva entre la concentración - del irritante y la alteración tisular.
2. De entre los productos estudiados, los más inocuos a -- cualquier concentración son el aceite de sésamo y el miristato de isopropilo.
3. En apoyo de la teoría de Shintani se concluye que no hay relación aparente entre el pH y la irritación causada, - en los niveles estudiados.
4. Así mismo, la acidez, en los rangos estudiados, no es un parámetro de evaluación.
5. Hay una relación proporcional entre el aumento del número de hidroxilo en la solución estudiada y la irritación provocada, aunque ésto está sujeto a estudios más amplios de comprobación.
6. En estudios tan amplios como el presente, que utiliza - una gran variedad de disolventes y aditivos, no es aconsejable utilizar únicamente la evaluación macroscópica de de irritación por ser tan variada la respuesta producida en el músculo.
7. Definitivamente, la evaluación histopatológica es una herramienta útil en los casos enunciados anteriormente.

VI. BIBLIOGRAFIA.

1. Avis, K. E.; Parenteral Preparations. In Martin, E.W.(ED), Husa's Pharmaceutical Dispensing, 7^a Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., (1971).
2. Benitz, K.F., y Dambach, G.; Morphologic Quantification of Muscular Lesions After Injections of Aqueous Solutions; *Arzneimittel- Forsch*; 16: 658 (1966).
3. British Pharmacopoeia, The Pharmaceutical Press, Londres, (1973).
4. Carpenter, Ch. P., et al; A Study of the Polyethylene -- Glycols as Vehicles for Intramuscular and Subcutaneous - Injections; *J.Am.Pharm.Ass.*, 61 (1): 27, (1952).
5. Connors, K.A., A Textbook of Pharmaceutical Analysis, John Wiley & Sons., Inc., N.Y., (1967).
6. Drill, V.A., Pharmacology in Medicine, 3^a Ed., Mc. Graw-Hill Book Co., Inc., N.Y., (1970).
7. Guyton, A.C., Tratado de Fisiología Médica., 2^a Ed., Interamericana, S.A., México, (1963).
8. Hanson, D.F.; Local Toxic Effects of Broad-Spectrum Antibiotics Following Injection; *Antibiot. Chemotherapy*; 11 : 790, (1961).
9. Kuna, S., Cuchie, F.T.; Local Irritation Caused by Streptomycin in Animals Compared to Pain Produced in Man; *J. Am.Pharm.Ass.*, 38 (9): 516, (1949).
10. Lachman, L., The Teory and Practice of Industry Pharmacy., Lea & Febiger., Filadelfia, (1970).
11. Martínez, G. M.J., Estudio Enzimológico del Líquido Sinovial., Tesis Profesional., UNAM., (1972).

12. Mattock, G. y Taylor, G.R.;
pH Measurement and Titration;
Heywood & Company Ltd.; London, (1961).
13. Merck Index.,
7^a Ed.,
Merck and Co. Inc.,
Rahway, N.Y. (1960).
14. Osol-Farrar-Pratt.,
The Dispensatory of The United States of America.,
25^a Ed.,
J.B. Lippincott Co.,
Filadelfia, (1960).
15. Parrot, L.E.,
Pharmaceutical Technology.,
Burgess Publishing Co.,
Minneapolis, (1970).
16. Perez, R.T.,
Principios de Patología.,
2^a Ed.,
La Prensa Mexicana.,
México, (1965).
17. Physicians Desk Reference to Pharmaceutical Specialties
and Biologicals.,
27^a Ed.,
U.S.A., (1973).
18. Platcow, E.L., y Voss, E.; A Study of Adaptability of
Isopropyl Myristate for Use as a Vehicle for Parenteral
Injections; J.Am.Pharm.Ass., 63 (11); 690, (1954).
19. Reese, D.R.; Bull Parent.; Drug Assoc.; 16 (5): 11, --
(1962).
20. Riffkin, C., et al.; Castor Oil as a Vehicle for Paren-
teral Administration of Steroid Hormones; J.Pharm.Sc.,
53 (8): 981, (1964).
21. Runnells, A.R., Monlux, W.S.,
Principios de Patología Veterinaria.,
C.E.C.S.A.,
México, (1970).
22. Setnikar, J., y Temelcou, O.; Osmotic Concentration and
Osmotic Pressure in Injectable Solutions; J.Am.Pharm.Ass.
48 (11): 628, (1959).
23. Shintani, S., et al.; A New Method to Determine the Irri-
tation of Drugs After Intramuscular Injection in Rabbits;
Toxic. Appl. Pharmacol., 11, 293, (1967).

24. Smyth, H.F., et al.; The Toxicity of High Molecular -- Weight Polyethylene Glycols, Chronic Oral and Parenteral Administration; J.Am.Pharm.Ass., 36 (6): 349, (1950).
25. Smyth, H.F., et al.; The Toxicology of the Polyethylene Glycols; J.Am.Pharm.Ass., 39 (5): 157, (1947).
26. Sodeman, S.,
Fisiopatología Clínica.,
4^a Ed.,
México, (1967).
27. Spiegel, A.J., y Noseworthy, M.M.; Use of Nonaqueous -- Solvents in Parenteral Products; J.Pharm.Sc., 52: 917, (1963).
28. United States Pharmacopeia.,
18^a Rev.,
Mack Publishing, Co.,
Easton, Pa., (1960).