

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

DESARROLLO DE UNA FORMULACION DE
METRONIDAZOL EN SOLUCION INYECTABLE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A

CITLALI GONZALEZ TORRES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1994





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 está 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.

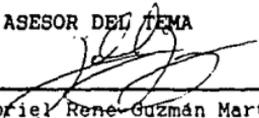
JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof. Jose Luis Ibarnea
Vocal	Prof. Gabriel Rene Guzman Martinez
Secretario	Prof. Pedro Alfredo Gorgonio Hernández
1er. Suplente	Prof. Luis Torres Septien Luhrs
2do. Suplente	Profra. María del Socorro Alpizar Ramos

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

Laboratorios Silanes S.A.

ASESOR DEL TEMA



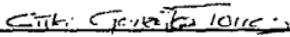
Q.F.B. Gabriel Rene Guzmán Martínez

SUPERVISOR TECNICO



Q.F.B. Javier García Fragoso

SUSTENTANTE



Citlali Gonzalez Torres

Con cariño a:

Jorge González Angulo

Mercedes Torres de González

Ayari González Torres

. . . Porque son lo más importante en mi vida.

Con amor a:

Herwig Kohrs

. . . Porque el terminar ésta tesis, marca el inicio
de una nueva etapa en nuestra vida.

A todos mis amigos

. . . Por su apoyo y compañía

Agradezco al Q.F.B. Gabriel René Guzmán Martínez.

. . . Por su asesoría, su tiempo, sus invaluables
consejos y por todo el apoyo que me ha brindado.

A Laboratorios Silanes, S.A. de C. V.

. . . Por las facilidades otorgadas para la
realización de éste trabajo.

Q.F.B. Javier Rafael García Fragoso
Q.F.B. Martha Gorgonio Hernández
Q.F.B. Pedro Gorgonio Hernández
Q.F.B. José Luis Ibarnea Avila

. . . Por su asesoría y sus valiosas observaciones.

Alberto Sánchez de la Vega Tort
James y Frida Wright

. . . Por su apoyo, paciencia y la ayuda que me
brindaron.

C O N T E N I D O

INTRODUCCIÓN	1
--------------------	---

CAPITULO I.

GENERALIDADES

1. Soluciones inyectables.....	5
Vehículos	5
Agua inyectable.....	6
Disolventes no acuosos.....	8
Sustancias adicionadas.....	12
Conservadores.....	13
Antioxidantes.....	15
Amortiguadores de pH.....	17
Solubilizantes y anticristalizantes.....	18
Isotonicidad de soluciones inyectables.....	18
Métodos de preparación y producción a gran escala.....	19
Filtración.....	21
Llenado aséptico.....	22
Control ambiental.....	23
Esterilización terminal.....	25

Control de calidad de soluciones parenterales.....	27
Esterilidad	27
Prueba de pirógenos	28
Prueba de sellado.....	29
Claridad de la solución.....	29
2. Solubilidad.....	30
pH.....	31
Cosolvencia	32
Solubilización	33
Formación de complejos	33
Hidrotropía	34
Modificación química de la molécula	35
3. Estabilidad	36

CAPITULO II

MONOGRAFÍA DEL PRINCIPIO ACTIVO

Información básica.....	39
Propiedades físicas	40
Curva pH-solubilidad.....	41
Identificación	42
Métodos de Análisis.....	44
Usos / Dosis	46

Profármacos derivados del Metronidazol	47
Farmacocinética	49
Toxicidad	50

CAPITULO III.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Selección del proveedor de metronidazol.....	51
Análisis de control de calidad.....	51
Caracterización de materia prima.....	53
Forma cristalina.....	53
Distribución de tamaño de partícula	
por el método de tamices	53
Características del polvo.....	55
Solubilidad comparativa.....	55
Propiedades en solución.....	56
Elección del proveedor.....	56
2. Pruebas de solubilidad.....	57
Disolventes puros.....	58
Solubilidad en mezclas de disolventes.....	58
Agentes solubilizantes	64
3. Pruebas de estabilidad física.....	64
Elaboración del protocolo de estabilidad.....	64

Protocolo de estabilidad física I.....	66
4. Elaboración de soluciones y evaluación de su estabilidad física	67
5. Optimización de las formulaciones.....	73
Utilización de anticristalizantes.....	74
6. Elaboración de soluciones a escala piloto.....	76
Factibilidad de producción a escala industrial.....	77
7. Facilidad de manejo de la solución.....	78
8. Pruebas de estabilidad física.....	79
Protocolo de estabilidad física II.....	80
9. Pruebas de estabilidad química.....	82
Protocolo de estabilidad química.....	83
10. Estabilidad microbiológica.....	86
Reto microbiológico.....	86
11. Isotonicidad de la solución.....	89
 ANALISIS DE RESULTADOS.....	 94
 CONCLUSIONES.....	 97
 BIBLIOGRAFÍA.....	 98

INTRODUCCIÓN

El metronidazol, es un fármaco ampliamente utilizado en la actualidad para el tratamiento de enfermedades producidas por parásitos como la Entamoeba hystolitica, Trichomona vaginalis y Giardia lamblia. También por su acción bactericida, se emplea contra infecciones por bacterias anaerobias. Se administra por vía oral, vaginal, rectal e intravenosa y presenta una acción intestinal y sistémica.

En el caso de la vía de administración intravenosa, se emplea para el tratamiento de amebiasis invasora y absceso hepático amebiano cuando la vía oral no es accesible ^(17,24). En 1980, el metronidazol fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para el tratamiento de infecciones serias causadas por bacterias anaerobias susceptibles; también, se aprobó su empleo junto con agentes antimicrobianos apropiados para el tratamiento de infecciones concomitantes por microorganismos aerobios ⁽¹⁸⁾. Actualmente, el metronidazol por vía intravenosa, se emplea con éxito en el tratamiento de casos graves de infecciones causadas por microorganismos anaerobios por ejemplo, infecciones intraabdominales, neumonía necrotizante, infecciones posparto, posaborto, abscesos pulmonares, perirectales entre otros ^(13,21).

Como puede observarse, el metronidazol administrado por vía intravenosa, es de suma importancia hoy en día, y es por esto que resulta atractivo para un laboratorio farmacéutico, el contar con una solución inyectable de metronidazol entre sus productos. En el mercado, existen diversas presentaciones de soluciones intravenosas de metronidazol, por ejemplo, 500 mg en 100 ml lista para inyectarse, 500 mg en 10 ml y 200 mg en 10 ml que se administran diluídas en solución salina isotónica

El metronidazol es un fármaco poco soluble en agua (10 mg/ml) (23), lo que constituye una limitante para el desarrollo de soluciones parenterales de volumen pequeño y hace necesario la utilización de disolventes orgánicos u otros medios para aumentar su solubilidad y estabilizar la solución. En 1986, se publicó un artículo en el que se considera la estabilidad y las condiciones de almacenamiento de las soluciones inyectables de metronidazol. En éste, tres de los cinco fabricantes entrevistados, reportan que pueden aparecer cristales en la solución si ésta se refrigera, y que se disuelven al llevar la solución a temperatura ambiente (6).

El objetivo de este trabajo, es desarrollar una solución parenteral de volumen pequeño de metronidazol con una concentración de 20 mg/ml, para que sea física, química y microbiológicamente estable, de un costo adecuado y tecnológicamente factible de ser producida a escala industrial. Se desea que la solución permanezca estable a temperatura de refrigeración y a temperatura ambiente, como un

indicativo de su estabilidad en un amplio intervalo de temperaturas de almacenamiento.

Para llevar a cabo el desarrollo de la solución, se revisará la información bibliográfica acerca del fármaco. Se evaluará el metronidazol de dos proveedores y se realizarán pruebas de solubilidad del metronidazol en varios disolventes puros y mezclas de ellos, para determinar el sistema que permita tener la concentración deseada en solución.

Posteriormente, se diseñarán formulaciones tentativas y se evaluará su estabilidad física en refrigeración.

Las soluciones más estables, así como las resultantes de su optimización, se fabricarán a escala piloto para determinar la factibilidad de ser producidas a escala industrial. Su estabilidad física se evaluará por un período de tiempo más prolongado a temperatura ambiente y refrigeración.

Finalmente, se estudiará la solución físicamente estable para determinar su estabilidad química y microbiológica; también se realizarán los cálculos de isotonicidad de la solución.

CAPITULO I

GENERALIDADES

Las preparaciones inyectables, son soluciones, suspensiones o emulsiones estériles que contienen uno o más fármacos; se preparan por disolución o suspensión del principio activo y otros aditivos en agua para inyección, en un líquido no acuoso o en una mezcla de líquidos miscibles entre sí. Se administran por diferentes vías: subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intrarraquídea, epidural e intraarticular. (1)

Por su forma de administración, los preparados parenterales, no tienen contacto con la piel y membranas mucosas que son las principales barreras protectoras del organismo; es por esto, que deben de estar libres de contaminación microbiana, de componentes tóxicos así como también deben de poseer un alto grado de pureza.

El objetivo de este trabajo, consiste en desarrollar una solución inyectable de metronidazol para administración intravenosa por lo que se revisará la composición y principales características de las soluciones inyectables.

SOLUCIONES INYECTABLES

Como solución inyectable, se designa a un fármaco disuelto en un vehículo adecuado, con sustancias adicionadas o sin ellas fabricado para administrarse parenteralmente.⁽³³⁾ Estas, al igual que las preparaciones inyectables en general, pueden ser clasificadas en base a su vía de administración.

Las soluciones inyectables intravenosas, pueden ser soluciones de pequeño o gran volumen listas para aplicarse, o soluciones de volumen pequeño que se aplican mezclándose en suero fisiológico. Estas deben estar libres de partículas extrañas ya que existe el peligro de bloquear capilares finos, principalmente en el cerebro. La pureza de los componentes utilizados, debe ser excepcional, ya que pequeñas cantidades de contaminantes pueden producir irritación en los tejidos, y causar degradación del producto como resultado de cambios químicos sobre todo cuando se utiliza esterilización terminal ⁽²⁰⁾.

VEHÍCULOS

A continuación, se revisarán algunos de los vehículos más utilizados en la fabricación de soluciones parenterales.

Agua inyectable.

El agua, por ser uno de los componentes más abundantes en los fluidos corporales es el vehículo más ampliamente utilizado en las soluciones estériles.

Según la FEUM 5a edición, el agua para fabricación de inyectables, es agua obtenida por destilación o por ósmosis inversa a la que no se ha añadido sustancia alguna. Esta debe cumplir con una serie de pruebas para determinar su pureza que pueden ser consultadas en la monografía respectiva en la FEUM 5a edición o en la monografía de " Water for Injection" en United States Pharmacopeia (USP). De las pruebas que se realizan, la prueba de pirógenos, requiere una mención especial ya que una de las principales características del agua inyectable y de las soluciones parenterales es que deben ser apirogénicas.

Pirógenos

Los pirógenos, son sustancias que al ser inyectadas a humanos o animales, producen fiebre, y en concentraciones elevadas pueden producir alteraciones en la sangre, shock y finalmente la muerte. Son de origen bacteriano y los más potentes son los producidos por las bacterias gramnegativas. Están constituidos por lipopolisacáridos que forman parte de la capa externa de la pared celular y son liberados en grandes cantidades cuando la célula se

lisa. Por ser solubles en agua, los pirógenos, no pueden ser eliminados de una solución por métodos como esterilización por filtración ni por vapor en autoclave. Aunque existen métodos para eliminarlos como la absorción, adsorción u oxidación, lo más adecuado, es que las materias primas, agua y recipientes que se utilicen en la fabricación de un inyectable, se encuentren libres de pirógenos desde un principio.

El agua recién destilada para la fabricación de inyectables, debe ser recolectada en recipientes libres de pirógenos y ser utilizada durante las primeras 24 horas. Cuando los pirógenos se encuentran en material de vidrio o acero, se pueden eliminar por calentamiento a altas temperaturas (250 °C durante 30 a 45 minutos ó 170-180 °C por tres o cinco horas) y en caso de que el material, por su tamaño no pueda ser sometido a altas temperaturas, debe ser enjuagado con agua libre de pirógenos.

El producto final debe evaluarse para determinar la ausencia de pirógenos. La prueba oficial, es una prueba cualitativa que se basa en el aumento de temperatura en el conejo como respuesta a agentes pirogénicos (MGA 0711, FEUM 5a edición). Una prueba alternativa que es ampliamente utilizada es la de Lisado de Amebocitos de *Limulus* (LAL) obtenido de la sangre del cangrejo *Limulus polyphemus*. Esta prueba se basa en la formación de un gel firme que se produce cuando el lipopolisacárido (endotoxina) activa una enzima tipo tripsina que a su vez reacciona con una

proteína coagulígeno en el lisado. Esta prueba, ha demostrado ser más sensible, más rápida y sencilla que la prueba por conejos, además de que puede ser una prueba cuantitativa (2, 20, 32).

Disolventes no acuosos

Como se ha mencionado, el agua, es el vehículo de primera elección en la formulación de preparados parenterales; sin embargo, es necesario utilizar otro tipo de disolventes cuando el fármaco es insoluble en ella, tiene una solubilidad baja para los fines que se requieren o es incompatible químicamente por reacciones de degradación del tipo hidrolíticas. Estos disolventes deben cumplir con una serie de características para poder ser utilizados. Deben tener un alto grado de pureza, ser atóxicos, no irritantes y no producir sensibilización; tampoco deben tener por sí solos una acción farmacológica o afectar adversamente la acción del medicamento y deben ser miscibles con los fluidos corporales. Además de estas propiedades, el disolvente ideal, no debe afectarse con ácidos o bases, debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y uso farmacéutico, permanecer en forma líquida en un intervalo amplio de temperaturas y tener una viscosidad apropiada para su inyección. Sin olvidar, que debe ser poco inflamable y de fácil adquisición en el mercado (30).

Los disolventes no acuosos, pueden ser miscibles o inmiscibles con agua y se utilizarán unos u otros, dependiendo de las propiedades

del fármaco y de la vía de administración. Los disolventes inmiscibles con agua, incluyen a los aceites fijos, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo. Entre los disolventes miscibles con agua, se encuentran los dioxolanos, la dimetilacetamida, N-(β-hidroxietyl)-lactamida, butilenglicol, propilenglicol, polietilenglicol 400 y 600, glicerina y alcohol etílico (20). Cuando el preparado farmacéutico se aplica por vía intravenosa sólo se pueden utilizar aquellos disolventes miscibles con agua; estos últimos se revisarán más detalladamente. Los disolventes miscibles con agua más utilizados, son el polietilenglicol y el propilenglicol.

i. Polietilenglicol.

Los polietilenglicoles, son polímeros del óxido de etileno con la fórmula general $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$ donde n representa el número de grupos óxido de etileno. Estos se designan con un número que representa el peso molecular promedio. Los polietilenglicoles 200,300,400 y 600 son líquidos moderadamente viscosos, incoloros, higroscópicos, no se hidrolizan o deterioran y se disuelven en agua en cualquier proporción formando soluciones claras (18, 30).

En 1952, se realizó un estudio que justifica el uso de polietilenglicoles como vehículos para inyecciones intramusculares y subcutáneas (9). En la literatura se encuentra una revisión de sus propiedades físicas, toxicidad y aplicaciones como vehículos, solubilizantes y estabilizantes en soluciones parenterales (30).

También se encuentra una descripción del comportamiento de los eritrocitos frente a diferentes sistemas de polietilenglicol agua

(29) .

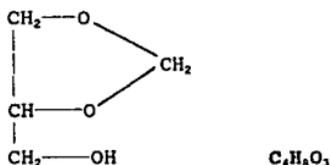
ii. Propilenglicol

El propilenglicol ($C_3H_8O_2$) es un líquido claro, incoloro, viscoso y prácticamente inodoro. Su punto de ebullición es 188 °C y su densidad es igual a 1.036. Es ampliamente utilizado en la industria farmacéutica, se utiliza como disolvente o cosolvente en aerosoles, soluciones orales, tópicas y parenterales; también como conservador y humectante en semisólidos. Se reporta como un ingrediente no dañino para la Industria Farmacéutica (18). Ruddick J.(1971) presenta un estudio de la toxicología y metabolismo del Propilenglicol. Se ha descrito su uso en soluciones inyectables intramusculares e intravenosas (30). El propilenglicol esta clasificado entre las sustancias que no ejercen presión osmótica sobre los eritrocitos (28) . En 1964, se realizó un estudio sobre el comportamiento de los eritrocitos en soluciones de propilenglicol-agua, en el que se reporta que para obtener una solución isotónica, se debe adicionar de 0.8 a 0.9 % de cloruro de sodio; siempre y cuando, la concentración de propilenglicol no sea mayor de 30 %. En este estudio, utilizan también, con los mismos fines, soluciones isotónicas de azúcares, sales monovalentes, cloruro de magnesio, sulfato y succinato de sodio. De estas sustancias, las que ofrecen mayor protección al eritrocito contra

la hemólisis por el propilenglicol, son el sulfato de potasio, tartrato disódico y citrato trisódico en concentraciones isotónicas (7,8) .

iii. Metiliden

El metiliden o glicerol formal, es un producto de la condensación del glicerol y el formaldehído cuya fórmula estructural es la siguiente:



PM 104

Es un líquido químicamente estable, incoloro, inodoro y de baja viscosidad. Es miscible en agua en cualquier proporción, es muy soluble en alcohol, cloroformo y éter. El pH de una solución al 10 % es de 4.5 a 6.5 y la gravedad específica es 1.219.

La dosis letal LD 100 por vía peritoneal en ratas es de 3000 mg/kg y la dosis máxima asintomática de 1500 mg/kg (30) . El metiliden es utilizado como disolvente para otras soluciones intravenosas en el laboratorio.

SUSTANCIAS ADICIONADAS

En la mayoría de los productos estériles, es esencial adicionar sustancias que ayuden a mantener o mejorar su estabilidad. Estas sustancias pueden ser de diferente naturaleza y tener fines tan diversos como mantener la estabilidad física y química de la solución, prevenir el crecimiento de microorganismos cuando se utilizan envases de dosis múltiples o para facilitar la administración al disminuir el dolor o la irritación en tejidos. Entre estas sustancias, podemos encontrar solubilizantes, anticristalizantes, antioxidantes, agentes quelantes, amortiguadores del pH, conservadores, agentes para isotonzar la solución y varios más dependiendo de las necesidades de cada producto.

Al igual que los vehículos y el principio activo, todas las sustancias adicionadas deben ser químicamente puros y libres de contaminación microbiana y pirógenos. No deben interferir con la acción terapéutica del principio activo y es necesario que mantengan su actividad durante la vida de anaquel del producto. A continuación se revisarán brevemente algunas de las sustancias más utilizadas.

Conservadores

Los conservadores, son agentes antibacterianos y/o antifúngicos que se adicionan para prevenir el crecimiento de microorganismos accidentalmente introducidos en recipientes de dosis múltiples. También se recomienda incluir un agente antimicrobiano en soluciones de volumen pequeño que no pueden ser esterilizadas terminalmente o que son de dosis múltiple. Las excepciones generales, son aquellos productos que pasan la prueba de Efectividad de Preservativos Antimicrobianos (FEUM) debido al efecto antimicrobiano del principio activo, pH, disolvente o la combinación de estos. (2)

El conservador ideal, es aquel que es efectivo a bajas concentraciones, soluble en la formulación, atóxico y no sensibilizante, compatible con los componentes de la formulación, libre de olor, sabor y color, económico y estable (3).

Existen cuatro clases de agentes antimicrobianos aplicables a productos parenterales:

- a) Alcoholes y sus derivados halogenados.
- b) Derivados del ácido benzóico y sus ésteres.
- c) Compuestos fenólicos.
- d) Compuestos cuaternarios de amonio.

Entre los compuestos más utilizados como conservadores, se encuentran, el alcohol bencílico, el timerosal, los parabenos y el fenol⁽¹⁾ .

Efectividad de conservadores

La efectividad de los conservadores se determina en el producto final, inoculándolo con una suspensión de microorganismos para obtener una concentración final cercana a un millón de microorganismos por g o por ml. Las especies de prueba recomendadas por la FEUM 5a ed. son las siguientes: Candida albicans, Aspergillus niger, Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa y Staphylococcus aureus.

La prueba se realiza inoculando cinco o más porciones del producto dependiendo de los microorganismos utilizados. Al mismo tiempo, se preparan controles para cada microorganismo con agua peptonada al 0.1 % inoculando la misma cantidad de suspensión que al producto. Se asegura la dispersión uniforme de los microorganismos y se determina la concentración inicial por el método de cuenta en placa. Los tubos se almacenan a 20 °C - 25 °C protegidos de la luz. Se separa 1 g o ml de producto de cada tubo al tiempo cero, 7, 14, y 28 días. Por medio de diluciones con agua peptonada al 0.1 % se realiza la cuenta en placa en agar de soya tripticaseína o agar dextrosa papa dependiendo del microorganismo. Puede adicionarse polisorbato 80 hasta un 10 por ciento m/v tanto al agua peptonada

como a los medios para inhibir a los conservadores. Las placas se incuban entre 30 y 35 °C por tres días para bacterias y entre 20 y 25 °C por cinco días para hongos y levaduras. Se determina el número de microorganismos viables por g o ml de producto y se anota cualquier cambio de apariencia.

Interpretación:

El conservador es efectivo en el producto examinado si:

- a) Las concentraciones de bacterias viables se reducen, y a los 14 días, no hay una concentración mayor al 0.1 por ciento de la inicial.
- b) Las concentraciones de hongos y levaduras viables permanecen o son inferiores a la concentración inicial durante los primeros 14 días y,
- c) Las concentraciones de cada uno de los microorganismos de prueba permanecen o están por abajo de los niveles indicados en a y b durante el resto de los 28 días del período de prueba. (13)

Antioxidantes

Una vez que el fármaco se encuentra en solución, puede estar sujeto a procesos degradativos como la oxidación; para evitarlo, se adicionan sustancias antioxidantes que mantienen la estabilidad del medicamento.

Los antioxidantes, pueden ser clasificados en tres grupos. El primer grupo, también conocido como "antioxidantes verdaderos", probablemente inhiben la oxidación, reaccionando con radicales libres. Son efectivos contra autooxidación, pero no en reacciones reversibles (redox). Ejemplos de éstos, utilizados en productos estériles son: ésteres del ácido ascórbico, butilhidroxitolueno (BHT) y tocoferoles.

El segundo grupo, consiste en agentes reductores; estas sustancias, poseen un potencial redox menor que el del principio activo o adyuvantes a los cuales se desea proteger y por lo tanto es más fácilmente oxidable. Son efectivos contra agentes oxidantes, y pueden actuar también al reaccionar con radicales libres. Dentro de este grupo, podemos encontrar al ácido ascórbico, tiourea, bisulfito de sodio y metabisulfito de sodio.

El tercer grupo, consiste en agentes antioxidantes sinergistas: por sí solos, tienen un efecto antioxidantes ligero, pero probablemente, aumentan la acción de antioxidantes del primer grupo al reaccionar con iones de metales pesados que catalizan la reacción. Como ejemplos, podemos mencionar al ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido fosfórico y ácido tartárico.

La elección del antioxidante en una formulación, depende de la dosis, frecuencia y vía de administración, así como de las

propiedades físicas y químicas de los otros componentes de la formulación y tipo de envase. (22)

Cuando el oxígeno participa en la reacción oxidativa, este puede ser desplazado del producto al saturar el líquido con un gas inerte como el nitrógeno o con dióxido de carbono. Debido a los diferentes mecanismos de acción de los antioxidantes, pueden utilizarse solos o en combinación (20) .

Amortiguadores de pH

Los amortiguadores de pH o buffers, se adicionan a la formulación para mantener y estabilizar el pH durante la vida del producto. El producto, esta sujeto a cambios de pH por reacciones químicas entre los componentes o por disolución de compuestos del contenedor primario, ya sea de vidrio, plástico o de goma. El sistema utilizado, debe tener la capacidad del amortiguar el pH en el producto, sin afectar el pH del organismo al ser administrado. Los sistemas que más se utilizan, son los citratos, fosfatos y acetatos y se eligen tomando en cuenta el intervalo de pH en el cual son efectivos, su concentración y el efecto sobre la preparación (20) .

Solubilizantes y anticristalizantes

Existen fármacos, que por su baja solubilidad en agua son difíciles de obtener en solución. Para lograr una solución estable se ha recurrido a diferentes métodos:

a) Uso de cosolventes o disolventes orgánicos como ya se revisó en vehículos no acuosos.

b) Utilización de sustancias que solubilizan o evitan que el fármaco cristalice. Como ejemplos, podemos citar el uso de creatinina, N-metil creatinina o niacinamida para la solubilización del alcohol libre de cortisona en una formulación de fosfato de hidrocortisona, el uso del benzoato de sodio para solubilizar cafeína (33) y el uso de polivinil pirrolidona para solubilizar oxitetraciclina, trimetoprim o sulfamoxol (5).

c) Utilización de tensoactivos no iónicos como los polisorbatos para la solubilización de fármacos, especialmente para aquellos que son solubles en aceite (19).

ISOTONICIDAD DE SOLUCIONES INYECTABLES

Una solución es isotónica con una célula, cuando al contacto con esta, la célula no tiene una ganancia o pérdida neta de agua o presenta algún cambio. Las soluciones fisiológicas con una

presión osmótica menor a la de los fluidos corporales o la de una solución al 0.9% de cloruro de sodio, son llamadas hipotónicas; mientras que las que tienen una presión osmótica mayor, hipertónicas. La isotonicidad, es de gran importancia en soluciones parenterales, sus efectos, dependen de la desviación de la tonicidad, la concentración, el sitio de inyección, el volumen, la velocidad de aplicación, la rapidez de dilución y difusión. Si al formular una solución, esta es hipotónica, se puede ajustar la tonicidad agregando diversas sales como sulfato o cloruro de sodio o azúcares como dextrosa y maltosa. Las soluciones que por sí mismas son hipertónicas, no pueden ser ajustadas. Una solución no isotónica, debe ser administrada lentamente en pequeños volúmenes

(24) •

MÉTODOS DE PREPARACIÓN Y PRODUCCIÓN A GRAN ESCALA.

El proceso de fabricación de inyectables, abarca desde la combinación de los componentes de la formulación hasta el envasado en recipientes individuales para su distribución. La figura 1, representa un diagrama de flujo de la producción de un inyectable, en el que los puntos críticos, son : las condiciones del área, el personal que labora dentro de ella, el lavado y esterilización de los envases primarios y el proceso de llenado aséptico.

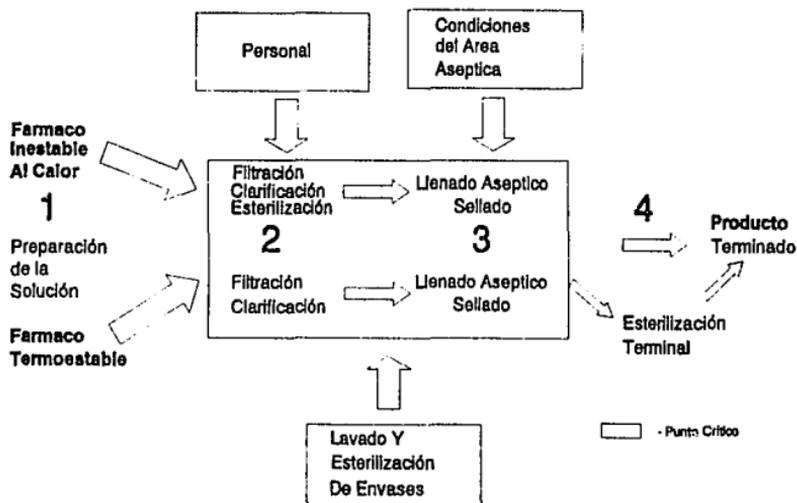


Fig.1 DIAGRAMA DE FLUJO DE LA PREPARACION DE SOLUCIONES ESTERILES

La preparación de las soluciones, en general consiste en disolver el principio activo y excipientes en una porción del disolvente, ajustar de pH y llevar la solución al volumen final deseado. El área de fabricación, debe ser un área limpia, los tanques y recipientes utilizados, deberán ser de acero inoxidable y enjuagados con agua estéril libre de pirógenos antes de su utilización. Todo el proceso, debe seguir estrictamente las buenas prácticas de manufactura.

Filtración.

Una de las principales características de las soluciones parenterales es que deben ser estériles y libres de partículas extrañas. Para lograr esto, la solución se somete a un proceso de filtración para eliminar los microorganismos y cualquier tipo de partícula presente en la solución. Los tipos de filtros que generalmente se utilizan para soluciones parenterales son membranas que retienen en su superficie a toda aquella partícula o microorganismo mayor al tamaño del poro. Para lograr la esterilidad, se utilizan filtros con poro $0.22 \mu\text{m}$. Los materiales utilizados, son polímeros plásticos y se eligen dependiendo de las características de la solución. Como la retención de las partículas se lleva a cabo en la superficie, la membrana puede saturarse disminuyendo la velocidad de filtración; para evitar esto, generalmente se tiene un proceso previo de clarificación o

prefiltración. La velocidad de flujo a través de un filtro, se ve afectada por el tamaño de poro, la presión diferencial de un lado al otro, la viscosidad de la solución y la superficie del filtro. De estos aspectos, lo más práctico para aumentar la velocidad del flujo, es aumentar la presión diferencial y la superficie de filtración. Cuando se requieren filtrar grandes volúmenes, se recomienda utilizar membranas plegadas en cartucho, ya que tienen una mayor superficie, y toleran una presión diferencial mayor. En todo proceso, deben de realizarse pruebas de integridad de la membrana o cartucho (20).

Llenado aséptico

Para mantener a las soluciones estériles libres de partículas extrañas deben ser envasadas en un ambiente controlado, libre de partículas y de contaminación microbiana. El área donde se lleva acabo el llenado y sellado del producto, es la más crítica ya que es aquí donde el producto entra en contacto con el ambiente y con el personal involucrado.

El proceso de llenado aséptico, es una de las operaciones más exigentes dentro de la industria farmacéutica ya que la esterilidad, es una función acumulativa de todos los procesos involucrados en la manufactura del producto (2, 20).

Control ambiental.

Para obtener la calidad necesaria de aire suministrado al área aséptica, este debe pasar a través de filtros HEPA (high efficiency particulated air) donde se elimina el 99.97 % de las partículas de 0.3 μm o mayores. Como los microorganismos, generalmente se encuentran sobre las partículas, estos son también eliminados. El área aséptica, debe tener presión positiva con respecto a las áreas adyacentes, de tal manera que prevenga la entrada de aire del exterior. Para proteger los procesos críticos, el aire filtrado, se mantiene en un flujo laminar en el que el movimiento es uniforme y en líneas paralelas creando un mínimo de turbulencias (20).

Las condiciones del aire dentro del área aséptica, deben estar claramente especificadas, validadas y ser monitoreadas periódicamente.

i. Control ambiental microbiológico

El programa de control ambiental microbiológico del área áseptica, debe contemplar la determinación de partículas viables en el aire, en superficies y personal, llevando a cabo la caracterización de los microorganismos recuperados, para poder determinar la fuente de contaminación (25).

ii. Superficies

El área aséptica, debe estar construida de tal manera que sea fácil de limpiar. Las paredes, pisos y techo, deben estar cubiertos de resina epóxica de acuerdo a la naturaleza de los sanitizantes utilizados y todas las uniones entre la construcción deben contar con acabados sanitarios. El área debe ser sanitizada periódicamente rotando los agentes sanitizantes. La efectividad de la sanitización y la posible contaminación causada por el personal debe ser monitoreada periódicamente por el método de placas de contacto, muestreo con hisopo, enjuague de superficies con posterior examen o siembra del fluido (23).

iii. Personal

El personal involucrado en la fabricación de productos esteriles, tiene un efecto crítico en la calidad final. Las personas que laboran dentro de un área aséptica, deben ser pulcras, ordenadas, confiables y con habilidades manuales; así como estar capacitadas y concientizadas de la importancia de sus actividades. Deben entender que cada movimiento que realicen, tiene un efecto importante sobre la calidad final del producto, principalmente en la esterilidad.

Para trabajar dentro de área aséptica, el operario deberá vestir con overol, escafandra, guantes y botas estériles y desplazarse

con movimientos lentos para evitar la formación de turbulencias. La salud del personal, así como la contaminación microbiana en guantes y brazos, se controlará periódicamente, sin embargo, el operario, tiene como responsabilidad el reportar si presenta síntomas de alguna enfermedad infecciosa para que sea asignado al trabajo en un área menos crítica hasta su completo restablecimiento

(25, 20) *

Esterilización terminal

La esterilización de una solución parenteral acuosa en su envase final, es llamada esterilización terminal. Este tipo de proceso, se lleva a cabo por calor húmedo en autoclave y es uno de los métodos de esterilización más confiables, por lo que debe ser empleado siempre que sea posible.

Las preparaciones farmacéuticas acuosas en contenedores herméticamente selladas, resisten la temperatura de autoclave, manteniendo la esterilidad. Las preparaciones no acuosas, en recipientes sellados, no pueden ser esterilizadas de esta manera ya que no existe agua dentro del contenedor que genere vapor para alcanzar el efecto de esterilización. La esterilización por vapor es aplicable también para equipo con partes de hule, filtros, y uniformes.

El efecto letal del calor sobre los microorganismos, depende de la temperatura, del período de exposición y de la humedad presente. Cuando se utiliza calor húmedo por autoclave, se trabaja a presión alta para aumentar la temperatura del vapor, por ejemplo, a 15 PSI, la temperatura del vapor aumenta a 121 °C. Una vez que todo el material y su contenido ha alcanzado la temperatura de 121 °C, el tiempo de esterilización, sólo es de 10 minutos. Para determinar la duración del ciclo de esterilización se toman en cuenta varios factores, ya que el tiempo que tarda el contenido del autoclave en alcanzar la temperatura de esterilización, depende del tamaño del autoclave, material de los componentes de la carga y acomodo que tengan.

El proceso deberá ser validado para determinar los ciclos de esterilización y asegurar su eficiencia. También, deben incluirse indicadores biológicos (esporas de microorganismos resistentes al calor) para saber si las condiciones de esterilización se alcanzaron. Los indicadores más confiables y precisos son los termopares que se insertan en diferentes sitios en la carga. La temperatura se registra a tiempos determinados teniendo así la información de las condiciones del ciclo de esterilización (20, 33).

CONTROL DE CALIDAD DE SOLUCIONES PARENTERALES.

El control de calidad en productos estériles, se realiza en materias primas e insumos necesarios para la fabricación, en producto intermedio a lo largo del proceso y en el producto terminado.

Al producto final, además de ensayos generales como son valoración de los principios activos, pH, variación de volumen; se realizan pruebas especiales como son la esterilidad, prueba de pirógenos, prueba de sellado y claridad de la solución, que son aplicadas de manera característica a los productos parenterales.

i. Esterilidad

La prueba de esterilidad es la que verifica que el procedimiento de esterilización previamente validado, y el proceso de llenado aséptico se han llevado a cabo eficazmente. Esta prueba tiene como fundamento, la detección de microorganismos viables utilizando medios de cultivo adecuados para el crecimiento de bacterias, hongos y levaduras.

Existen dos métodos para la realización de la prueba, el método directo y el de filtración a través de membrana. Para soluciones, el método de elección es el de membrana en el cual el líquido es

filtrado en condiciones asépticas a través de una membrana de 0.45 μm . Posteriormente, la membrana o la mitad de ella, se incuba en medio de cultivo Caldo de Tioglicolato a 35 °C y en Caldo de Soya Trypticaseína a temperatura ambiente. Si no se desarrolla crecimiento durante 7 días de incubación, la prueba se considera satisfactoria (13) .

ii. Prueba de pirógenos.

Como ya se había mencionado, la prueba de pirógenos es una prueba cualitativa basada en la respuesta febril de los conejos, por la presencia de agentes pirogénicos, principalmente endotoxinas (MGA 0711, FEUM)

La prueba de endotoxinas bacterianas (Biological tests 85, USP XXII) es una prueba alternativa, que estima la concentración de endotoxinas bacterianas que puedan estar presentes en una muestra utilizando el Lisado de Amebocitos de Limulus (LAL). Este reactivo se obtiene de extractos acuosos de los amebocitos del cangrejo Limulus polyphemus preparado como reactivo para la formación de un gel.

Para realizar la prueba, el LAL reconstituido con agua libre de pirógenos se mezcla en partes iguales con la solución a analizar y diluciones apropiadas; se incuba a 37 °C durante 60 \pm 2 minutos.

Una prueba positiva es cuando se forma un gel firme que permanece íntegro cuando se invierte el tubo 180 °. Una prueba negativa es cuando no hay formación de gel, o el gel viscoso formado, no se mantiene íntegro. Deben realizarse paralelamente, pruebas de control positivo y negativo.

iii. Prueba de sellado.

La prueba de sellado se realiza para verificar que la ampollita ha sido sellada por completo. Consiste en sumergir las ampollitas en una solución colorida, generalmente azul de metileno al 1 %. En estas condiciones, el producto se somete al vacío en una cámara especial, de tal forma que el colorante penetre en las ampollitas cuyo sellado haya sido incompleto. Las ampollitas coloreadas se desechan (20, 33) .

iv. Claridad de la solución.

Se considera una buena práctica de manufactura, el revisar individualmente los recipientes finales en busca de partículas. La prueba se realiza examinando cada recipiente con una buena luz sobre un fondo blanco y uno negro, eliminando aquellos que tengan partículas visibles. Esta prueba está limitada por el tamaño de la partícula y factores del personal examinador, como la fatiga, agudeza visual y estado emocional. Existen en la actualidad revisadores automatizados (20, 33) .

2. SOLUBILIDAD.

En 1980, Helman , definió a la disolución, como:

"la dispersión sin reacción de una o más sustancias en un medio líquido simple o complejo, con formación de una fase líquida transparente y homogénea." ¹

Esta fase homogénea, en la cual los componentes no pueden separarse por procedimientos mecánicos es llamada solución verdadera. Como regla general, conviene referirse a la sustancia que se disuelve como soluto y a aquella en la que tiene lugar la disolución como disolvente.

El hecho de que una sustancia se disuelva en un sistema, y el grado en que ésta se disuelva, depende de las características químicas del compuesto, la naturaleza e intensidad de las fuerzas presentes en el soluto, el disolvente y la interacción soluto-disolvente resultante.

Cuando se desea obtener una solución más concentrada que la que se podría obtener en agua o en otro disolvente puro cualquiera, se puede recurrir a diferentes métodos para aumentar la solubilidad; esto puede realizarse, modificando a la molécula del

1. Helman J. (Ed.) (1980)
Farmacotecnia Teórica y Práctica. Tomo II
Cia Editorial Continental, S.A., México pp 347

soluto o al disolvente. Los métodos utilizados en la Industria Farmacéutica para modificar la solubilidad de un fármaco son los siguientes:

- a) pH
- b) Cosolvencia
- c) Solubilización
- d) Formación de complejos
- e) Hidrotropía
- f) Modificación química del fármaco

a) **pH**

Cuando un fármaco es un ácido o base débil, su solubilidad puede ser influenciada por el pH del disolvente. Si se aplica la ley de acción de masas, puede predecirse la solubilidad de un base o ácido débil en un medio acuoso (20) .

Al seleccionar el pH del medio para lograr una adecuada solubilidad, se deben de tomar en cuenta varios factores como son que el pH elegido no interfiera en el efecto terapéutico de la sustancia, en la estabilidad del producto y que sea aceptable fisiológicamente.

En los estudios de preformulación, es recomendable realizar el perfil de pH - solubilidad de un fármaco para determinar el intervalo de pH en el que el fármaco es más soluble.

b) Cosolventancia

Cuando un fármaco, es poco soluble en agua, ya sea porque es poco polar, o es un electrolito débil puede recurrirse a la modificación del disolvente. La solubilidad puede incrementarse por medio de la cosolventancia, que consiste en adicionar al agua, un disolvente miscible en ella, en el cual la molécula tiene una buena solubilidad.

Existen varias teorías para explicar este fenómeno, una de ellas, propone que el cosolvente disminuye la tensión interfacial entre la fase acuosa y el soluto hidrofóbico. Otra teoría, lo explica como el resultado de la solubilidad del soluto en cada disolvente por separado; sin embargo, la solubilidad de un compuesto en un sistema de cosolventes, no puede predecirse por su solubilidad en cada uno de ellos. También, debe tomarse en cuenta que la solubilidad, depende de la proporción en que se encuentre cada disolvente, así como del pH final del sistema.

La solubilidad de un compuesto en un sistema puede predecirse utilizando el método de la exigencia dieléctrica. Este método

relaciona la solubilidad de un compuesto y la constante dieléctrica del disolvente (19,20) .

c) Solubilización

La solubilización, también llamada solubilización micelar, se lleva a cabo cuando se utilizan sustancias tensoactivas para solubilizar un compuesto poco soluble en agua y formar una solución coloidal transparente. El mecanismo de este fenómeno, se explica por la capacidad de los tensoactivos de formar agregados coloidales llamados micelas en las cuales el soluto se disuelve o se adsorbe.

El tensoactivo debe elegirse por su eficiencia y tomando en cuenta sus efectos sobre el producto o su acción, ya que se ha observado que pueden modificar la absorción intestinal del principio activo o disminuir la potencia de los conservadores presentes en la formulación (19,20) .

d) Formación de complejos

La solubilidad de un compuesto en un disolvente dado, puede verse modificada por la formación de complejos. Cuando esto ocurre, la solubilidad total es igual a la solubilidad del compuesto libre más la solubilidad del complejo en solución. El grado en que la

solubilidad de un fármaco puede ser incrementada, se limita por la solubilidad del complejo formado y por la del agente complejante.

La elección de un agente complejante, se realiza en base a un estudio de la variación de la solubilidad respecto a la concentración del complejante, así como por los efectos que pudiera tener el complejo en la seguridad, estabilidad y eficacia terapéutica del producto (20).

e) Hidrotropía

La hidrotropía se lleva a cabo cuando se incrementa la solubilidad de un compuesto en agua debido a la presencia de grandes cantidades de un aditivo muy soluble. El mecanismo de acción aún no está bien definido; en general se piensa que el hidrotropizante, que tiene grupos polares y apolares, conjuga estos últimos con los apolares del material a disolver, quedando tal conjugado englobado por las porciones polares e hidrofílicas.

Los hidrotropizantes, generalmente poseen grupos electronegativos: grupos sulfónicos, carboxilos, fenólicos, aminas y amidas. Las sustancias que han sido utilizadas con este fin, son benzoato y salicilato de sodio, uretanos, antipirina, urea, sacarina sódica, n-alquilacetamida, etilendiamina, antipirina, piperazina y metilglucamina.

El uso de la hidrotropía, al igual que el de la complejación, es limitado debido a las altas concentraciones de agentes necesarias y porque algunos de ellos presentan efectos fisiológicos. Algunas de las sustancias que se han solubilizado por este método son la cafeína, teofilina, esteroides, barbitúricos, sulfonamidas, vitaminas y proteínas. Se utiliza cuando las sustancias requieren ser aplicadas en forma líquida, en dosis moderadas y de preferencia por vía inyectable (20).

f) Modificación química de la molécula

Una molécula poco soluble en agua, puede ser modificada químicamente para introducir un grupo polarizable que aumente su solubilidad. Esto implica una nueva síntesis, por lo tanto, la nueva molécula, debe ser evaluada para determinar si el efecto terapéutico es equivalente al de la molécula original. Se debe realizar la evaluación clínica y estudios de toxicidad aguda y crónica. Como puede observarse, el alto costo que implica la modificación química por la evaluación posterior, sólo se justifica cuando ya se han agotado los otros métodos de solubilización (19,20).

3. ESTABILIDAD

Una forma farmacéutica es estable durante un tiempo de almacenamiento, cuando mantiene entre límites especificados las características físicas, químicas, microbiológicas, terapéuticas y tóxicas que tenía al momento de ser fabricada.

El objetivo de los estudios de estabilidad es asegurar la integridad de la formulación durante un tiempo determinado para que durante ese lapso, el medicamento cumpla con los fines para los que fue fabricado. Un fármaco inestable, puede no ser efectivo a la dosis recomendada o provocar efectos adversos debido a los productos de degradación formados.

Para determinar o establecer la vida útil de un medicamento, así como sus condiciones de almacenamiento, se realiza un estudio de estabilidad acelerada. En éste, se utilizan métodos validados por medio de los cuales la estabilidad de la formulación a temperatura ambiente puede predecirse por almacenamiento en condiciones que aceleren el cambio de una manera definida y pronosticable.

Para poder obtener una fecha de caducidad tentativa de 24 meses a temperatura ambiente, se requieren datos analíticos de tres lotes piloto fabricados en las condiciones y equipo de producción, en el envase primario con el que el producto saldrá al mercado. El

análisis se realiza a los tres meses de almacenamiento a 37 °C, 45 ° C y 60 °C (los productos que lo soporten), período durante el cual, el principio activo no deberá perder más de un 10 % de la potencia o contenido determinado en el análisis inicial. El aspecto no deberá sufrir ningún cambio apreciable. La información analítica debe ser complementada con observaciones físicas de los lotes a las temperaturas mencionadas, además de muestras cicladas a diferentes temperaturas durante el día y la noche por un período de cuando menos 10 días.

Las características a evaluarse dependen de la forma farmacéutica. En el caso de soluciones parenterales de pequeño volumen se debe evaluar el contenido de principio activo, apariencia, color , claridad, pH y esterilidad (a intervalos razonables a temperatura ambiente). La FDA establece que se evalúe pirogenicidad.

Para asegurar la esterilidad de estos productos, pueden realizarse la evaluación de la integridad del envase, reto a conservadores o pruebas de esterilidad. Los parenterales a excepción de las ampollitas, deben ser almacenados, tanto boca arriba como boca abajo, para poder determinar si el contacto entre el sistema de cierre y el producto afecta la integridad del mismo.

Con objeto de comprobar o modificar la fecha de caducidad tentativa, se requerirá la información de 3 lotes de producción,

fabricados y envasados en las mismas condiciones que los productos que salen al mercado. Estos se se mantendrán en envejecimiento natural a temperatura ambiente por el tiempo correspondiente a la fecha de caducidad que se desee comprobar o modificar y/o a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (75% de humedad relativa) por un periodo de tiempo que variará entre 12 y 24 meses dependiendo de la fecha de caducidad que se desee obtener:

12 meses a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (75 % de H.R.) corresponde a 36 meses de caducidad

18 meses a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (75 % de H.R.) corresponde a 48 meses de caducidad

24 meses a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (75 % de H.R.) corresponde a 60 meses de caducidad

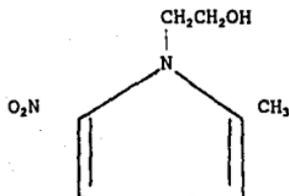
(11, 14)

CAPITULO II

MONOGRAFIA DEL METRONIDAZOL

INFORMACIÓN BÁSICA (23, 36, 13)

- Nombre genérico:** Metronidazol
- Nombre Químico:** 1-(2-hidroxiethyl) 2-metil-nitro-imidazol
- Sinónimos:** Elysol, Flagyl, Metrolyl, Metryl, Neo-tric, Nidazol.
- Fórmula Condensada:**
- Peso Molecular:** 171.16
- Fórmula Desarrollada:**



- Aspecto:** Polvo cristalino
- Color:** Amarillo pálido, estable al aire, pero se oscurece al exponerlo a la luz.

Sabor: Amargo, ligeramente salado.

Olor: Inodoro.

PROPIEDADES FÍSICAS.

Rango de fusión: 159-163 °C (11)

Forma Cristalina: Agujas

Polimorfismo: No se reportan polimorfos en la literatura.

Solvatos: No se reportan en la literatura.

Rotación óptica: No exhibe rotación óptica.

pKa = 2.62 (12)

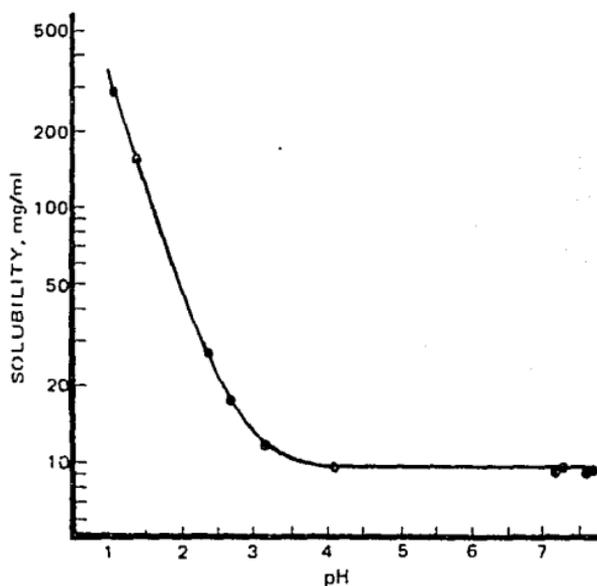
Solubilidad a 25°C

DISOLVENTE	SOLUBILIDAD (mg/ml)	REFERENCIA
AGUA	9.50	12
AGUA	10.50	36
ETANOL	5.00	12
METANOL	32.20	12
ACETONA	20.70	12
BENCENO	0.65	12
ACETATO DE ETILO	6.50	12
ACETONITRILLO	17.20	12
ETER	0.99	12
CLOROFORMO	4.01	12
CLORURO DE METILENO	4.12	12
DIOXANO	18.40	12
TETRAHIDROFURANO	17.70	12

CURVA pH - SOLUBILIDAD ²

CURVA pH - SOLUBILIDAD

DISOLVENTE : AGUA



² Cho M.J. et. al. J. Pharm Sci.71, 410 (1982)

Solubilidad en agua determinada por HPLC.

24 horas de agitación continua a 25 °C

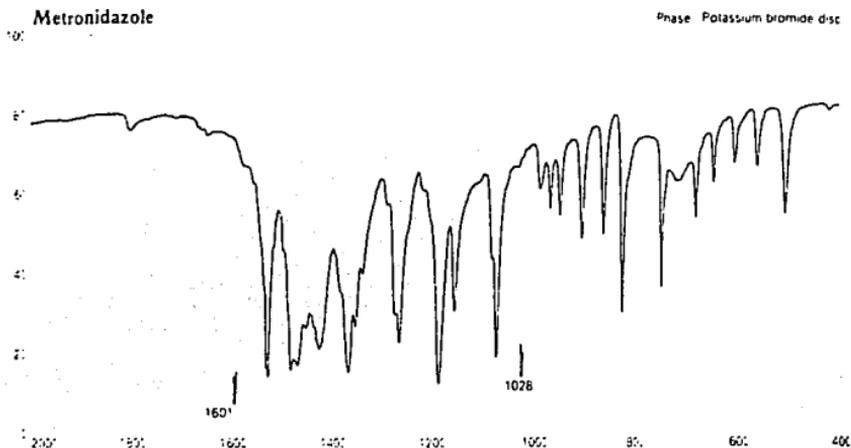
Amortiguadores utilizados: ácido clorhídrico, cloroacetato, acetato y fosfatos.

IDENTIFICACIÓN.

i. Espectro Infrarrojo: (36)

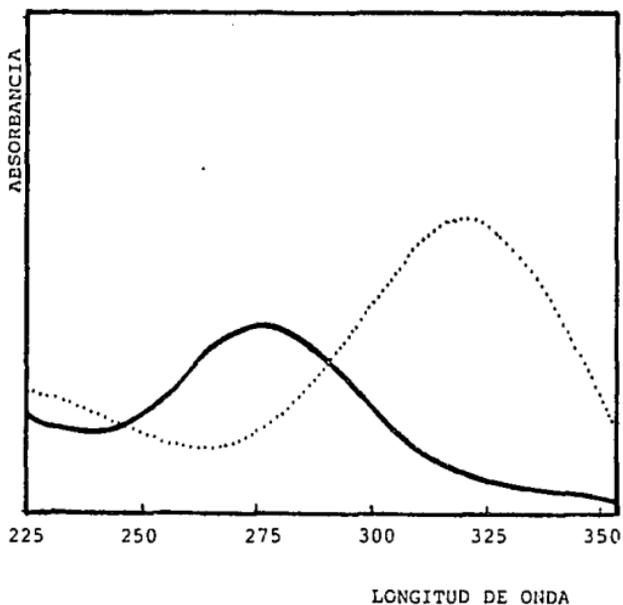
BANDA (cm^{-1})	ASIGNACION
3230	OH
3105	C=CH; C-H
1538 Y 1375	NO ₂ ; N-O
1078	C-OH; C-O
830	C-NO ₂ ; C-N

ESPECTRO INFRARROJO.³



British Pharmacopoeia (1988)
Vol I
U.K. Her Majesty's Stationery Office

ii. Espectro Ultravioleta ⁴



225 250 275 300 325 350

LONGITUD DE ONDA

⁴ Clarke's Isolation and Identification of Drugs
The Pharmaceutical Press London (1986)

— Solución acuosa ácida, absorbancia máx. 277 nm

.... Solución acuosa alcalina, absorbancia máx. 319 nm

MÉTODOS DE ANÁLISIS.

TITULACIÓN. (13)

Disolver 100 mg de la muestra en 20 ml de anhídrido acético calentar ligeramente hasta disolver. Enfriar y adicionar una gota de solución indicadora de verde de malaquita. Titular con solución .1 N de ácido perclórico hasta que aparezca una coloración verde - amarillenta. Realizar una brueba blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de la solución 0.1 N de ácido perclórico equivale a 17.12 mg de metronidazol.

ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO.

El análisis espectrofotométrico puede llevarse a cabo utilizando como disolvente, una solución 0.1N de ácido sulfúrico en metanol. La absorbancia máxima es a los 274 nm. (134). Si se utiliza agua destilada como disolvente, la absorbancia máxima se encuentra a 320 nm (12).

ANÁLISIS COLORIMÉTRICO. (135)

El metronidazol puede analiarse colorimétricamente por reducción del grupo nitro a la amina correspondiente. La amina, se determina por diazotización y acoplamiento con el dihidrocloruro de N-(1-naftil)-etilendiamina. Existen variaciones de este método.

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.

i. Cromatografía en capa fina.⁽¹⁶⁾

A continuación se enlistan algunos de los sistemas cromatográficos utilizados en el análisis del metronidazol con su respectivo Rf.

SISTEMA DE DISOLVENTES	Rf
Acetona	0.65
CHCl ₃ : Metanol : Agua : Acido acético. 74:20:4:2	0.76
Benceno: Metanol: Hidróxido de Amonio. 79:20:1	0.36
CHCl ₃ : Metanol : Agua : Acido acético. 70:24:4:2	0.66

ii. Cromatografía de líquidos de alta resolución.⁽¹³⁾

Fase Movil: Disolver 0.68 g de fosfato monobásico de potasio en 930 ml de una mezcla de agua-metanol (930-70), ajustar a un pH de 4.0 ± 0.5 con solución 1 M de ácido fosfórico. Filtrar y degasificar.

Solución de Referencia: Preparar una solución de 1 mg/ml de metronidazol en metanol. Pasar una alícuota de 2 ml de la solución anterior a un matraz volúmetrico de 10 ml, adicionar 2 ml de agua, llevar al aforo con fase móvil y mezclar.

Condiciones del equipo: Detector de ultravioleta a una longitud de onda de 320 nm; columna de 4.6 mm x 25 cm, empacada con micropartículas de cerámica o de sílica porosa de 5 a 10 micras de diámetro, recubiertas con octadecilsilano; flujo 2 ml/min.

USOS / DOSIS:

Dosis recomendadas: (22)

Amebiasis: 400 a 800 mg por vía oral en tres tomas al día durante 5 a 10 días. Niños de 1 a 3 años un cuarto de la dosis, de 3 a 7 un tercio y de 7 a 10 la mitad de la dosis de adultos.

Giardiasis: 2 g diarios por vía oral en dosis única durante 3 días. La dosis infantil es proporcional como en la amebiasis.

Tricomoneasis: Una dosis única de 2 g o un tratamiento de 7 días de 200 ó 250 mg 3 veces al día, o 400 mg 2 veces al día.

Tratamiento de infecciones por bacterias anaeróbicas: Por vía oral una dosis inicial de 800 mg. seguida de 400 mg cada 8 hrs por 7 días. Cuando la vía oral no está libre, el metronidazol puede ser administrado por vía intravenosa por infusión de 500 mg como una solución

5 mg/ml a una velocidad de 5 ml por minuto cada 8 hrs. Como dosis infantil administrar 7.5 mg/kg por vía oral ó infusión intravenosa. Es recomendable restituir la vía oral en cuanto sea posible.

Para la prevención de infecciones por bacterias anaerobias en pacientes sometidos a cirugía abdominal o ginecológica, el metronidazol se administra por vía oral intravenosa o rectal en dosis similares a las utilizadas para el tratamiento de tales infecciones. Un esquema recomendado para adultos es administrar 15 mg/kg de metronidazol por infusión intravenosa en 30 ó 60 minutos completándola 1 hora antes de la cirugía seguida de 2 dosis de 7.5 mg/kg por infusión a las 6 y a las 12 hrs después de la dosis inicial.

Por ninguna de las dos rutas se debe de exceder de una dosis total de 4 g en 24 hrs.

PROFÁRMACOS DERIVADOS DEL METRONIDAZOL.

Debido a que la baja solubilidad en agua del metronidazol dificulta la formulación de soluciones inyectables de alta concentración, se han sintetizado profármacos hidrosolubles.

En 1981, se sintetizó el metronidazol-fosfato con una solubilidad a pH 7, 50 veces mayor que la del metronidazol base. Reportan estudios de biodisponibilidad en ratas y estudios de hidrólisis

in vitro en suero humano; sin embargo no se encontró ningún reporte sobre su uso actual ⁽¹²⁾ .

En 1990, Vermeersh et al. realizaron un estudio de la actividad antitricomonocida *in vitro* de varios ésteres de aminoácidos del metronidazol y encontraron que los más activos son los ésteres de fenilalanina y el de leucina ⁽¹³⁾ .

El metronidazol puede ser solubilizado a pH menor a 2.5 al formarse el clorhidrato de metronidazol. Estas soluciones han sido utilizadas en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias anaerobias ⁽¹⁵⁾ y el en tratamiento de amebiasis invasora ⁽¹⁷⁾ . En ambos estudios, se obtuvo un alto índice de curación pero reportan daño en el epitelio vascular causado por el pH ácido de la solución. Para evitarlo, recomiendan la administración de la solución diluida por una vena central ⁽¹⁷⁾ o neutralizar la solución con un amortiguador de bicarbonato de sodio ⁽¹⁵⁾ .

Otro derivado del metronidazol, es el benzoil metronidazol, una forma insípida del metronidazol que se utiliza para suspensiones orales, es muy poco soluble en agua.

FARMACOCINÉTICA.

Por vía oral y rectal, el metronidazol, tiene una buena absorción; una dosis de 250 mg por vía oral produce una concentración plasmática máxima en una o dos horas con un descenso lento de la concentración.

Por vía intravenosa, se puede llegar a obtener una concentración hasta de 35 µg/ml.

El metronidazol, se combina poco con las proteínas plasmáticas; se distribuye por los líquidos intra y extracelulares. Pasa a todos los órganos y líquidos del cuerpo, inclusive atraviesa la placenta llegando al feto ⁽²¹⁾ .

Biotransformación y excreción

En el organismo, el metronidazol se oxida en el grupo metilo. En un estudio de los metabolitos de metronidazol en orina, se encontró que de la fracción de orina de metabolitos nitrogenados, un 30 a 40 % lo forma la base inalterada y su éter glucorónico, mientras que el otro 40 a 50 % de la fracción, lo forma el 1-(2-hidroxietil)-2- hidroximetil 5 nitroimidazol en su forma libre, así como su éter glucorónico ⁽²⁰⁾ .

La vida media del metronidazol es de 8.5 horas y se excreta alrededor del 90 % de una dosis en 5 días.

TOXICIDAD

El metronidazol, es un fármaco poco tóxico, los efectos secundarios, rara vez son tan severos como para requerir la suspensión del tratamiento. Dentro de los trastornos que puede causar se encuentran los gastrointestinales, nerviosos, cutáneos y la reacción disulfirámica.

a) Manifestaciones digestivas: anorexia, sabor metálico desagradable en la boca, náuseas, vómito y algunas veces cólicos y diarrea.

b) Manifestaciones nerviosas: cefalea y somnolencia.

c) Manifestaciones cutáneas: Urticaria, rubor y prurito.

d) Reacción disulfirámica: Algunos pacientes presentan molestias abdominales, vómitos, rubor o cefalea cuando toman bebidas alcohólicas durante el tratamiento, por lo que debe evitarse el uso de alcohol.

Todas estas reacciones no son graves, y ceden al disminuir la dosis o al interrumpir el tratamiento (16, 21) .

Se ha comprobado que el metronidazol en altas dosis, es carcinogénico en roedores y mutágeno en bacterias, sin embargo, estudios a corto plazo en humanos, no revelaron incremento en el riesgo de carcinogénesis. No se aconseja su empleo durante el primer trimestre del embarazo.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

1. SELECCION DEL PROVEEDOR DE METRONIDAZOL

Antes de comenzar con el desarrollo de la formulación, se evaluó el metronidazol como materia prima de dos diferentes proveedores para determinar si existía alguna diferencia significativa que repercutiera en la solubilidad del metronidazol o en la estabilidad de la solución. Para realizar la evaluación, se analizaron los resultados control de calidad y se realizaron pruebas adicionales como distribución de tamaño de partícula, aspecto de los cristales, propiedades de funcionalidad del polvo y pruebas de solubilidad comparativa.

ANÁLISIS DE CONTROL DE CALIDAD

El cuadro 1, muestra una comparación de los resultados del análisis de control de calidad realizados al metronidazol de ambos proveedores. Las especificaciones fueron fijadas con referencia a USP XXII y a la FEUM 5a ed. Las dos materias primas cumplen con las especificaciones preestablecidas. No se observó ninguna diferencia significativa entre las dos materias primas.

CUADRO 1

**EVALUACION DE PROVEEDORES
ANALISIS DE CONTROL DE CALIDAD**

ANALISIS	ESPECIFICACION	PROVEEDOR I	PROVEEDOR II
DESCRIPCION	POLVO CRISTALINO BLANCO O LIGERAMENTE AMARILLO, ESTABLE AL AIRE, OSCURECE POR EXPOSICION A LUZ	CORRECTO	CORRECTO
IDENTIFICACION	IR, UV, PRECIPITADO P.F. 148-152	CORRECTO	CORRECTO
SOLUBILIDAD	ESCASAMENTE SOLUBLE EN AGUA, ALCOHOL Y CHCl ₃ , LIGERAMENTE SOL. EN ETHER	CORRECTO	CORRECTO
PUNTO DE FUSION	159 - 163 °C	160.3	160.9
PERDIDA POR SECADO	MAX. 0.5 %	0.022 %	0.069 %
RESIDUO DE IGNICION	MAX. 0.1 %	0.07 %	0.004 %
SUSTANCIAS NO BASICAS	SOLUCION CLARA	CORRECTO	CORRECTO
PUREZA CROMATOGRAFICA	CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA	CORRECTO	CORRECTO
METALES PESADOS	MAX. 50 ppm	CORRECTO	CORRECTO
VALORACION	99-101 % BASE SECA	100.4	100.59

CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA.

Para caracterizar la materia prima, se observó la forma de los cristales así como la distribución del tamaño de partícula y algunas propiedades del polvo.

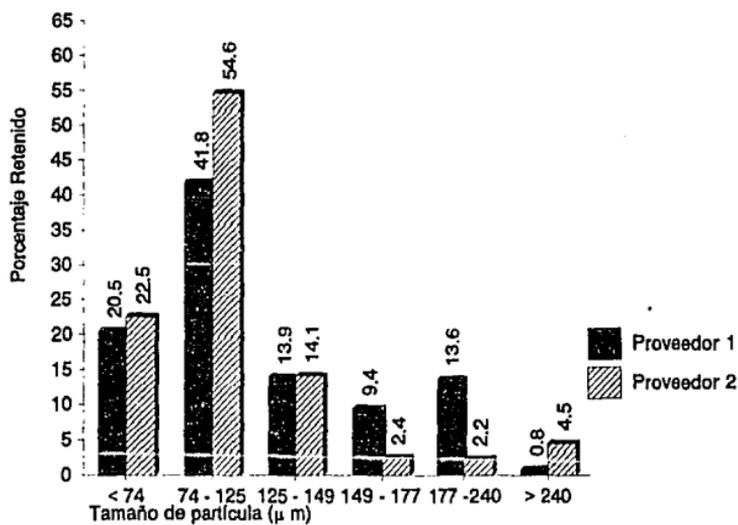
Forma cristalina.

Ambos polvos, presentan cristales en forma de agujas.

Distribución de tamaño de partícula por el método de tamices.

El estudio de distribución de tamaño de partícula por el método de tamices, muestra que el proveedor I tiene el 80 % de los cristales menores a $177 \mu\text{m}$ y tiene tan sólo un 0.8 % de partículas mayores a $240 \mu\text{m}$. El proveedor II, presenta el 80 % de sus cristales menores a $149 \mu\text{m}$ y un 4.5 % de partículas mayores a $240 \mu\text{m}$. Estas partículas son cristales y conglomerados.

GRAFICA 1
DISTRIBUCION DE TAMAÑO DE PARTICULA POR TAMICES



Características del polvo

Macroscópicamente, ambos son polvos cristalinos ligeramente amarillos, sin embargo el metronidazol del proveedor II, presentaba algunos conglomerados o terrones que hacía necesario tamizarlo para facilitar el proceso de solubilización.

El cuadro 3, presenta las propiedades de los polvos que fueron evaluadas.

CUADRO 3
CARACTERISTICAS DEL POLVO

PROPIEDAD	PROVEEDOR I	PROVEEDOR II
DENSIDAD APARENTE (Da) g/ml	0.521	0.489
DENSIDAD COMPACTADA (Dc) g/ml	0.598	0.593

SOLUBILIDAD COMPARATIVA

CUADRO 4
SOLUBILIDAD COMPARATIVA mg/ml

DISOLVENTE	PROVEEDOR I	PROVEEDOR II
AGUA	10.07	10.75
METILIDEN	60.30	61.60
PEG 400	25.53	24.42

PROPIEDADES EN SOLUCIÓN.

Se evaluaron las características de una solución de metronidazol de 10 mg/ml de ambos proveedores, se observaron las siguientes características:

CUADRO 5
PROPIEDADES EN SOLUCION

CARACTERISTICAS	PROVEEDOR I	PROVEEDOR II
ASPECTO	SOLUCION TRANSPARENTE, COLOR AMARILLO PAJA	SOLUCION TRANSPARENTE, COLOR AMARILLO PAJA
SABOR	LIGERAMENTE AMARGO	LIGERAMENTE AMARGO
OLOR	INODORO	INODORO
pH	5.99	5.86
OBSERVACIONES	-	SOLUBILIZACION LENTA DEBIDO A LA PRESENCIA DE CRISTALES GRANDES

ELECCIÓN DEL PROVEEDOR.

Como resultado de las evaluaciones realizadas, se decidió trabajar con el proveedor I que era el que presentaba menor cantidad de partículas grandes. Esto tiene como ventaja la eliminación del tamizado previo de la materia prima y la disminución del tiempo necesario para solubilizar el metronidazol.

2. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Se deseaba obtener una solución de metronidazol con una concentración de 20 mg/ml. Para determinar el sistema adecuado para obtener esta concentración, se realizaron pruebas de solubilidad del metronidazol en agua, disolventes orgánicos factibles de ser utilizados por vía parenteral, así como en mezclas de ellos.

Las pruebas de solubilidad del metronidazol, se realizaron de la siguiente manera:

Se colocó un gramo de metronidazol en un vaso de precipitados que contenía 25 ml de el disolvente a probar. La muestra se tapó con Parafilm⁵ y se agitó por medio de agitación magnética durante dos horas exactas a una temperatura de 23 a 25 °C. La solución se filtró a través de papel filtro Whatman No. 1; se tomó una alícuota y se realizaron las diluciones apropiadas en agua destilada. La concentración se determinó espectrofotométricamente⁶, leyendo la absorbancia de la solución a 320 nm utilizando como blanco agua destilada (10).

Parafilm "M" . Marca Registrada
Laboratory Film, American National Can.

⁶ Espectrofotómetro Beckman modelo DU65

DISOLVENTES PUROS.

El cuadro 6, muestra los resultados de las pruebas de solubilidad del metronidazol en disolventes factibles de ser utilizados por vía parenteral.

CUADRO 6
SOLUBILIDAD A TEMPERATURA AMBIENTE

DISOLVENTE	SOLUBILIDAD (mg/ml)
Agua	10.07
Propilenglicol	18.80
Polietilenglicol 400	27.47
Glicofurol	30.99
Metiliden	60.15

En el cuadro 6, puede observarse que los disolventes puros en los que el metronidazol presenta una solubilidad mayor a 20 mg/ml, son el polietilenglicol 400, el glicofurol y el metiliden.

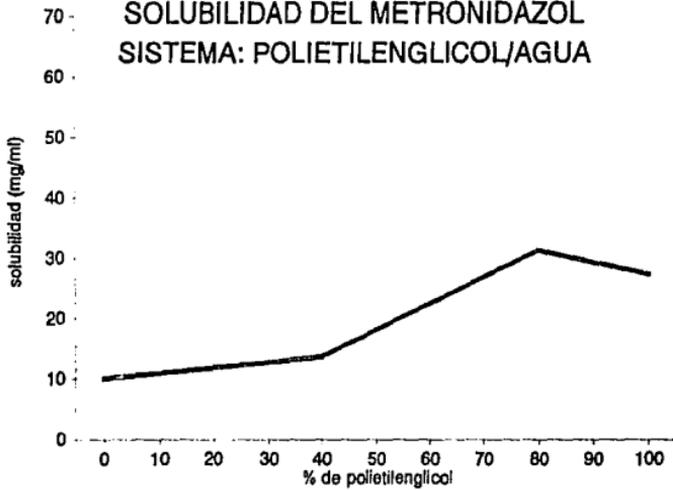
SOLUBILIDAD EN MEZCLAS DE DISOLVENTES

En lo que respecta a las pruebas de solubilidad en los sistemas disolvente orgánico - agua, las gráficas II a la V muestran el perfil de solubilidad del metronidazol en diferentes sistemas de disolventes. Aquellos sistemas en los que se puede lograr una solubilidad mayor a 20 mg/ml son los siguientes:

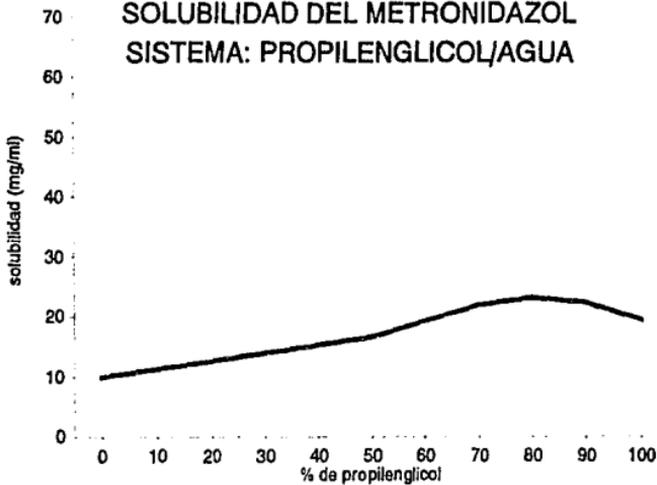
- a) Sistema polietilenglicol 400-agua con una concentración de disolvente mayor al 60 %.
- b) Sistema propilenglicol-agua con una concentración aproximada del 65 al 90 % de disolvente.
- c) Sistema glicofurol-agua cuando contiene más del 35 % de glicofurol.
- d) Metiliden-agua con una concentración de metiliden mayor al 15 %.

De los disolventes probados, el polietilenglicol 400 y propilenglicol son los de menor costo y mayor facilidad de adquisición. Por esto, se realizaron pruebas adicionales para mejorar la solubilidad del metronidazol en estos disolventes. La primera prueba, consistió en evaluar la solubilidad del metronidazol en mezclas propilenglicol - metiliden y en polietilenglicol 400 - metiliden. La gráfica VI muestra este perfil. En el caso de las mezclas propilenglicol - metiliden se observó una mayor velocidad de disolución así como también que se alcanzan concentraciones mayores de metronidazol en solución. Se procedió a evaluar la solubilidad del metronidazol en mezclas de propilenglicol - agua a la que se añadió un 10 % de metiliden. En la gráfica VII se puede observar que el metiliden aumenta la solubilidad del metronidazol de una manera constante.

GRAFICA 2
SOLUBILIDAD DEL METRONIDAZOL
SISTEMA: POLIETILENGLICOL/AGUA



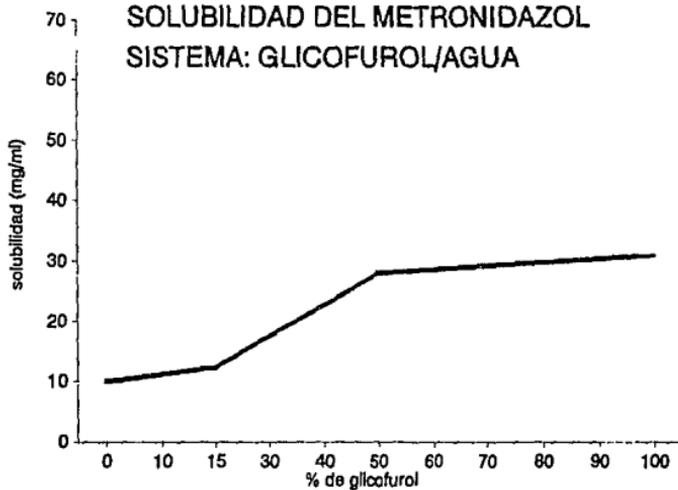
GRAFICA 3
SOLUBILIDAD DEL METRONIDAZOL
SISTEMA: PROPILENGLICOL/AGUA



GRAFICA 4

SOLUBILIDAD DEL METRONIDAZOL

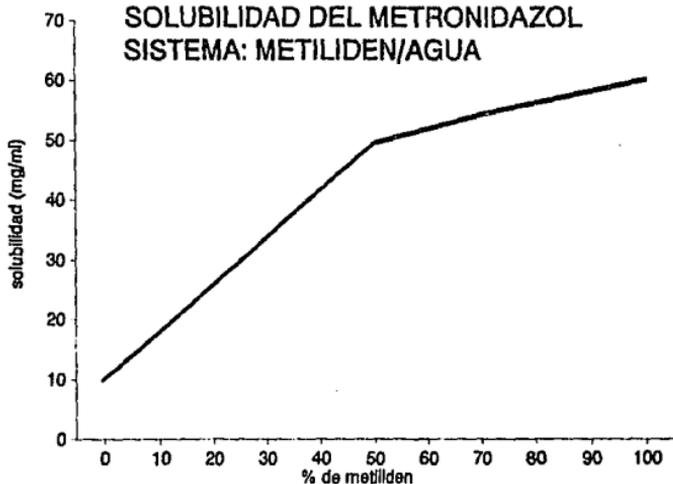
SISTEMA: GLICOFUROL/AGUA



GRAFICA 5

SOLUBILIDAD DEL METRONIDAZOL

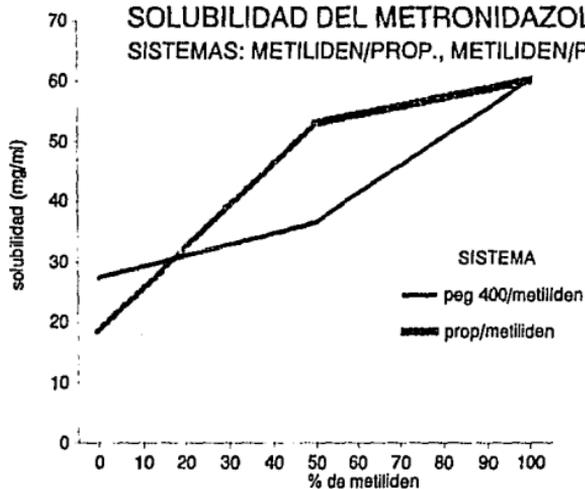
SISTEMA: METILIDEN/AGUA



GRAFICA 6

SOLUBILIDAD DEL METRONIDAZOL

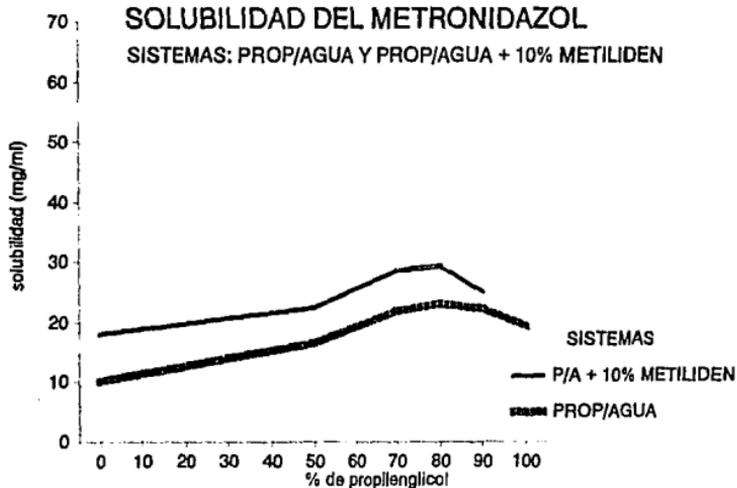
SISTEMAS: METILIDEN/PROP., METILIDEN/PEG 400



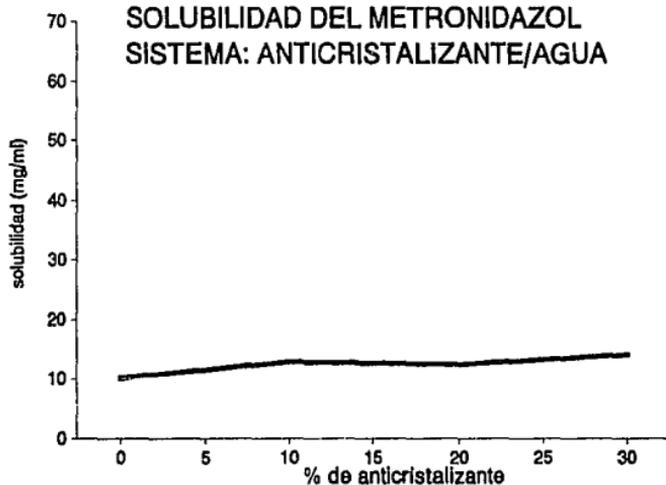
GRAFICA 7

SOLUBILIDAD DEL METRONIDAZOL

SISTEMAS: PROP/AGUA Y PROP/AGUA + 10% METILIDEN



GRAFICA 8
SOLUBILIDAD DEL METRONIDAZOL
SISTEMA: ANTICRISTALIZANTE/AGUA



AGENTES SOLUBILIZANTES

Además de mezclas de disolventes, se probó el efecto sobre la solubilidad del metronidazol en agua, de un agente solubilizante - anticristalizante que denominaremos como anticristalizante. Se probaron diferentes concentraciones de este agente; los resultados, se observan en la gráfica VIII y muestran que no hay un incremento significativo en la solubilidad con respecto a la del agua.

3. PRUEBAS DE ESTABILIDAD FÍSICA.

Cuando se desarrolla una solución inyectable de metronidazol, la estabilidad física es un factor muy importante para su formulación debido a que su solubilidad en agua es muy baja. En lo que respecta a estabilidad química, en la literatura sólo se reporta que se oscurece con la luz. Para evitar este efecto, se utilizaron envases color ámbar. La estabilidad química, se estudió en la solución físicamente estable.

Elaboración del protocolo de estabilidad.

Se realizó un estudio preliminar de estabilidad física para determinar las condiciones a las que la solución era más susceptible de cristalizar. Se eligieron tres condiciones: Temperatura ambiente, refrigeración (5 °C) y ciclados a 60 y 5 °C.

Se evaluó la presencia de cristales y partículas durante 2 semanas con revisión diaria sobre un campo claro y uno oscuro.

Los resultados demostraron que la condición determinante para la cristalización fue la temperatura de refrigeración y en segundo lugar temperatura ambiente. Durante los ciclados, no se observaron cristales. Las soluciones más inestables cristalizaron durante los primeros 3 a 5 días de observación.

Con estos resultados, se decidió evaluar el comportamiento de las soluciones únicamente a temperatura ambiente y en refrigeración. Se consideró que un período de observación de 30 días, era un tiempo razonable para elegir las soluciones más estables.

PROTOCOLO DE ESTABILIDAD FISICA I

PRODUCTO: METRONIDAZOL INYECTABLE

FORMA FARMACEUTICA: SOLUCION INYECTABLE

TEMPERATURA: _____

TIEMPO DE OBSERVACION (DIAS)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	9	10	12	13	14	21	28
ASPECTO: SOLUCION TRANSPARENTE COLOR AMARILLO PALIDO, LIBRE DE PARTICULAS EXTRAÑAS																

ANALISTA: _____

4. ELABORACIÓN DE SOLUCIONES Y EVALUACION DE SU ESTABILIDAD FISICA.

A partir de los resultados de las pruebas de solubilidad y el análisis de costo y disponibilidad de disolventes (ver Anexo 1), se diseñaron soluciones con una concentración de 20 mg/ml de metronidazol. Se prepararon 250 ml de cada solución, se envasaron en frascos de vidrio color ambar para la evaluación de su estabilidad física en las condiciones mencionadas.

Los cuadros 7 a 11 presentan un resumen de las soluciones evaluadas. Se realizó un cuadro para cada tipo de sistema, indicando su composición y el tiempo en días en el que presentaron cristales. Las soluciones que no cristalizaron en ninguna de las dos condiciones en 30 días de observación se encuentran resaltadas. Las soluciones que presentaron cristales en alguna de las dos condiciones se eliminaron del estudio y ya no se continuó su inspección visual en la segunda condición; esto se indica con un guión (-) .

CUADRO 7

FORMULACIONES EN EL SISTEMA POLIETILENGLICOL-AGUA

Cantidades en mg

FORMULACIÓN	1	2	3	4
METRONIDAZOL	20	20	20	20
PEG 400	700	800	900	950
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s	c.s	c.s	c.s
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml	1ml	1ml
CRISTALIZACION A 5 C	2 días	5 días	NO CRISTALIZA	7 días
CRISTALIZACION A T.A.	-	-	NO CRISTALIZA	-

CUADRO 8

FORMULACIONES EN EL SISTEMA METILIDEN-AGUA

Cantidades en mg

FORMULACION	5	6
METRONIDAZOL	20	40
METILIDEN	350	700
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s.	c.s
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml
CRISTALIZACION A 5 C	5 días	24 días
CRISTALIZACION A T.A.	-	-

CUADRO 9

FORMULACIONES EN EL SISTEMA
POLIETILENGLICOL - PROPILENGLICOL - AGUA

Cantidades en mg

FORMULACION	7	8	9	10	11	12	13
METRONIDAZOL	20	20	20	20	20	20	20
PEG 400	333	400	700	700	200	400	450
PROPILENGLICOL	333	400	100	200	700	500	500
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
CRISTALIZACION A 5°C	4 dias	3 dias	11 dias	7 dias	14 dias	10 dias	10 dias
CRISTALIZACION A T.A.	-	-	-	-	-	-	-

CUADRO 10

FORMULACIONES EN EL SISTEMA
POLIETILENGLICOL - METILIDEN - AGUA
cantidades en mg

FORMULACION	14	15	16	17	18	19	20	21	22
METRONIDAZOL	20	20	20	20	20	20	20	20	20
PEG 400	330	460	400	500	600	700	600	700	700
METILIDEN	330	200	300	300	200	100	300	200	300
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	-
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	-
CRISTALIZACION A 5 °C	18 dias	13 dias	28 dias	28 dias	5 dias	9 dias	13 dias	28 dias	NO CRISTALIZA
CRISTALIZACION A T.A.	-	-	-	-	-	-	-	-	NO CRISTALIZA

CUADRO 11

FORMULACIONES EN EL SISTEMA
 PROPILENGLICOL - METILIDEN - AGUA

Cantidades en mg

FORMULACION	23	24	25	26	27	28
METRONIDAZOL	20	20	20	20	20	20
PROPILENGLICOL	450	500	600	700	700	700
METILIDEN	200	300	200	100	200	300
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s	-
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	-
CRISTALIZACION A 5°C	3 días	10 días	10 días	NO CRISTALIZA	NO CRISTALIZA	NO CRISTALIZA
CRISTALIZACION A T.A.	-	-	-	NO CRISTALIZA	NO CRISTALIZA	NO CRISTALIZA

De los cuadros anteriores, las soluciones que no cristalizaron durante los 30 días de observación, fueron las que tenían los siguientes sistemas de disolventes.

CUADRO 12

CUADRO RESUMEN DE LAS SOLUCIONES MAS ESTABLES

FORMULACION	3	22	26	27	28
PEG 400	90 %	70 %	-	-	-
PROPILENGLICOL	-	-	70 %	70 %	70 %
METILIDEN	-	30 %	10 %	20 %	30 %
AGUA	10 %	-	20 %	10 %	-

De estas soluciones, se tomaron en cuenta las 3 que contenían al menos un 10 % de agua para cumplir con la definición farmacopéica y controlar adecuadamente el pH. Se realizó un estudio de costo por lote de fabricación para elegir aquellas soluciones con las que se continuaría el estudio. El estudio reveló que las soluciones 3 y 26 eran las de menor costo por lo tanto se decidió continuar trabajando con ellas.

CUADRO 13
COSTOS DE LAS FORMULACIONES
cantidades en mg

FORMULACION	3	26	27
METRONIDAZOL	20	20	20
PEG 400	900	-	-
PROPILENGLICOL	-	700	700
METILIDEN	-	100	200
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s	c.s	c.s
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml	1 ml
COSTO POR LOTE	\$	\$\$	\$\$\$

5. OPTIMIZACIÓN DE LAS FORMULACIONES

Con la finalidad de tener la mejor opción y mejorar la estabilidad, se diseñaron otras formulaciones basadas en las que hasta el momento habían sido las más estables.

La formulación 3, no permitía modificaciones ya que se habían probado anteriormente concentraciones mayores y menores de polietilenglicol. De la formulación 26, se decidió variar la concentración de propilenglicol a un 75 y 80 % manteniendo constante el % de metiliden, ajustando con agua la diferencia.

El cuadro 14, muestra la formulación 26 y las dos soluciones basadas en ella.

CUADRO 14

OPTIMIZACION DE LAS FORMULACIONES EN BASE A ESTABILIDAD

FORMULACION	26	29	30
METRONIDAZOL	20	20	20
PROPILENGLICOL	700	750	800
METILIDEN	100	100	100
AMORTIGUADOR DEL PH	c.s	c.s	c.s
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml	1 ml

Utilización de anticristalizante

El agente anticristalizante, sólo se había probado como agente solubilizante, sin embargo en esta etapa, se continuó con su utilización. Se deseaba evaluar el efecto anticristalizante sobre las soluciones que se tenían como estables, y sobre algunas otras, que por costo y disponibilidad de materiales, resultaban atractivas. La concentración recomendada para su uso como anticristalizante, es de 50 mg/ml. El cuadro 15, resume las formulaciones probadas.

CUADRO 15
FORMULACIONES CON ANTICRISTALIZANTE

Cantidades en mg

FORMULACION	31	32	33	34
METRONIDAZOL	20	20	20	20
PROPILENGLICOL	-	-	700	700
PEG 400	700	700	-	-
METILIDEN	-	-	100	100
ANTICRISTALIZANTE	25	50	100	50
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s	c.s	c.s	c.s
AGUA c.b.p.	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
VISCOSIDAD cps	48.66	51.60	42.66	28.0

La preparación de las soluciones con anticristalizante, añadía un paso más en el proceso de fabricación, que era el de la solubilización del anticristalizante; también se observó un aumento en la viscosidad de las soluciones. Como se verá en el análisis de factibilidad de producción, la viscosidad, es un factor determinante para la filtración y llenado de ampollitas. Es por esto, que de las cuatro soluciones anteriores, sólo se continuó trabajando con la solución 34 de una viscosidad de 28 cps para determinar su estabilidad.

6. ELABORACIÓN DE SOLUCIONES A ESCALA PILOTO

La elaboración de las soluciones a escala piloto, consistió en fabricar seis litros de solución para ser filtrada y llenada en condiciones estériles utilizando la maquinaria de producción. Las soluciones elaborada en estas condiciones fueron las siguientes:

CUADRO 16
SOLUCIONES A ESCALA PILOTO

SOLUCION	3	26	29	30	34
METRONIDAZOL	20	20	20	20	20
POLIETILENGLICOL 400	900	-	-	-	-
PROPILENGLICOL	-	700	750	800	700
METILIDEN	-	100	100	100	100
AMORTIGUADOR DEL pH	c.s	c.s	c.s	c.s	c.s
ANTICRISTALIZANTE	-	-	-	-	50
AGUA c.b.p.	1 ml				
pH INICIAL	5.60	5.23	5.53	5.36	5.17
VISCOSIDAD cps	68.0	21.0	24.5	30.0	28.0

Del cuadro 16, las soluciones 3 y 26, son las soluciones que en el estudio preliminar no cristalizaron, y las soluciones 29,30 y 34, son modificaciones a la solución 26.

FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN A ESCALA INDUSTRIAL.

a) Fabricación

Las soluciones se fabricaron utilizando agitadores de propela. Para su fabricación a escala industrial, se contaba con tanques y equipo de agitación con la capacidad adecuada.

b) Filtración

La filtración se llevó a cabo a través de membranas de poliamida con tamaño de poro de 0.22 μm . Todas las soluciones se filtraron sin problemas; se observó que la velocidad de filtración disminuía al aumentar la viscosidad de la solución. En escala industrial, la filtración se realizará en cartucho para disminuir el tiempo de filtración.

c) Llenado aséptico

Las soluciones se envasaron en ampolletas ambar de 10 ml utilizando una máquina llenadora Strunck. De las soluciones fabricadas, la solución 3 con 90 % de polietilenglicol 400 no pudo ser envasada debido a su alta viscosidad.

A partir de estos resultados, se fijó una viscosidad límite de 39 cps. Este límite se determinó en base a la solución más viscosa que se llenaba con esa maquinaria; este proceso esta considerado como lento, pero factible de ser fabricado. Las otras cuatro soluciones tenían una viscosidad menor a 39 cps por lo que no presentan

problemas para ser llenadas a escala industrial (la viscosidad de las soluciones se muestra en el cuadro 16).

7. FACILIDAD DE MANEJO DE LA SOLUCION

Después de observar que la alta viscosidad, dificultaba el proceso de fabricación; se decidió evaluar la facilidad de manejo de la solución terminada. La prueba consistió en contabilizar el tiempo necesario para llenar y vaciar una jeringa de 10 ml con las diferentes soluciones. Para cada solución, se utilizó una jeringa nueva con aguja del número 21 x 32 .Una vez más se tomó como control a la solución de una viscosidad de 39 cps como límite.

CUADRO 17

PRUEBA DE FACILIDAD DE MANEJO DE LA SOLUCION

FORMULACION	3	26	29	30	34	CONTROL
VISCOSIDAD (cps)	89.0	21.0	24.5	30.0	28.0	39.0
TIEMPO DE LLENADO (seg.)	246	32	45	73	66	84
TIEMPO DE VACIADO (seg.)	64	15	30	33	32	41
TIEMPO TOTAL (seg.)	310	47	75	106	98	125

De las soluciones evaluadas, una vez más, la solución 3 presenta dificultad en el manejo debido a su alta viscosidad, mientras que

si es posible manejar las otras cuatro. Las formulaciones 26 y 29, son las más fáciles de manejar.

B. PRUEBAS DE ESTABILIDAD FÍSICA

Las soluciones 29, 29, 30 y 34, fueron sometidas a pruebas de estabilidad física a temperatura ambiente y refrigeración durante 3 meses. La evaluación de presencia de partículas y cristales, se realizó a los 14, 28, 60 y 90 días.

A continuación se muestran los controles iniciales de las soluciones y el protocolo de estabilidad física que se siguió en el estudio.

CUADRO 18

CONTROL INICIAL DE LOTES PARA ESTABILIDAD

FORMULACIONES	26	29	30	34
ASPECTO: SOLUCION TRANSPARENTE, COLOR AMARILLO PAJA, LIBRE DE PARTICULAS EXTRAÑAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO COLOR LIGERAMENTE MAS INTENSO

PROTOCOLO DE ESTABILIDAD FISICA II

PRODUCTO: Metronidazol Inyectable

FORMA FARMACEUTICA: Solución Iny.

No. DE LOTE:

TEMPERATURA:

TIEMPO (DIAS)	14	28	60	90
ASPECTO: SOLUCION TRANSPARENTE, COLOR AMARILLO PAJA, LIBRE DE PARTICULAS EXTRAÑAS				

QUIMICO ANALISTA:

CUADRO 19
PRUEBAS DE ESTABILIDAD FISICA
OBSERVACIONES EN REFRIGERACION

FORMULACION	26	29	30	34
15 DIAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO
30 DIAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO
60 DIAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO
90 DIAS	1 AGUJA 1 CRISTAL	1 AGUJA	CRISTALES	CORRECTO

CUADRO 20
PRUEBAS DE ESTABILIDAD FISICA
OBSERVACIONES A TEMPERATURA AMBIENTE

FORMULACION	26	29	30	34
15 DIAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO
30 DIAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO
60 DIAS	CRISTALES	CORRECTO	CRISTALES	CORRECTO
90 DIAS	CRISTALES	CRISTALES	CRISTALES	CORRECTO

Los resultados muestran, que únicamente, la solución 34 (que contiene anticristalizante) fue estable durante el período de observación. Se continuó observándola a los 4 y 5 meses; la solución continuó siendo estable.

9. PRUEBAS DE ESTABILIDAD QUÍMICA.

Para la evaluación de la estabilidad química de las formulaciones propuestas, se cuantificó el contenido de metronidazol inicial en cada lote. La cuantificación se realizó por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, utilizando un método analítico desarrollado en el laboratorio por el Departamento de Desarrollo Analítico. Se consideró a ésta, una evaluación previa de la estabilidad ya que sólo se analizó un lote de cada una de las formulaciones. En el estudio formal, se incluyeron los otros 2 lotes de la formulación seleccionada.

Las soluciones fueron sometidas a 5 diferentes temperaturas de almacenamiento: Temperatura ambiente, refrigeración (4 °C), 35 °C, 45 °C y 60 °C. Sólo se llevó a cabo la evaluación a los tres meses de la solución que resultó ser físicamente estable. A continuación se muestra el protocolo de estabilidad química y el control inicial de los cuatro lotes en estudio.

PROTOCOLO DE ESTABILIDAD QUIMICA

PRODUCTO: Metronidazol Inyectable

FORMA FARMACEUTICA: Solución Iny.

No. DE LOTE:

TEMPERATURA:

ESPECIFICACIONES	CONTROL INICIAL	3 MESES
ASPECTO: SOLUCION TRANSPARENTE COLOR AMARILLO PAJA, LIBRE DE PARTICULAS EXTRAÑAS		
pH 5.0 - 6.0		
CONTENIDO DE METRONIDAZOL 95.0 - 105.0 %		
ESTERILIDAD PASA LA PRUEBA		

QUIMICO ANALISTA:

CUADRO 21

CONTROL INICIAL DE LOTES PARA ESTABILIDAD QUIMICA

FORMULACIONES	26	29	30	34
ASPECTO: SOLUCION TRANSPARENTE, COLOR AMARILLO PAJA, LIBRE DE PARTICULAS EXTRAÑAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO COLOR LIGERA- MENTE MAS INTENSO
pH 5.0 - 6.0	5.34	5.53	5.36	5.11
CONTENIDO DE METRONIDAZOL	100.31 %	100.95 %	105.77 %	101.63 %
PRUEBA DE ESTERILIDAD	PASA LA PRUEBA	PASA LA PRUEBA	PASA LA PRUEBA	PASA LA PRUEBA

De las cuatro formulaciones que se sometieron a pruebas de estabilidad física, únicamente la solución 34, no cristalizó durante el periodo de observación; por lo que se continuó con el análisis de la estabilidad química. Los resultados fueron los siguientes:

CUADRO 22
ESTABILIDAD QUIMICA A LOS TRES MESES
SOLUCION 34

ESPECIFICACIONES	CONTROL INICIAL	REFRIGERACION	TEMP. AMBIENTE	35 °C	45 °C	60 °C
ASPECTO: SOLUCION TRANSPARENTE COLOR AMARILLO PAJA, LIBRE DE PARTICULAS EXTRAÑAS	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	CORRECTO	COLOR LIGERAMENTE MAS INTENSO
pH 5.0 - 6.0	5.17	5.22	5.21	5.19	5.21	5.29
CONTENIDO DE METRONIDAZOL 95.0 - 105.0 %	101.63	99.33	99.40	95.24	94.91	97.12
ESTERILIDAD	PASA LA PRUEBA	-	PASA LA PRUEBA	-	-	-

El estudio preliminar de estabilidad química, demuestra que la solución es químicamente estable ya que no hay un degradación del metronidazol mayor al 10 % en ninguna de las condiciones de almacenamiento y el pH se mantiene dentro de los límites establecidos. A 60 C se observa una coloración ligeramente más intensa que se considera como un cambio aceptable.

10. ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA

La estabilidad microbiológica de una solución inyectable de dosis única, depende de la integridad del envase; en este caso de la ampolleta. La estabilidad microbiológica puede evaluarse, realizando una prueba de sellado o de esterilidad a intervalos largos de almacenamiento como indicador de la integridad del envase. A la solución inyectable desarrollada, se le realizó una prueba de esterilidad al inicio y a los 3 meses de almacenamiento a temperatura ambiente. Ambas pruebas resultaron negativas, con lo que se demuestra la estabilidad microbiológica de la solución durante este período.

RETO MICROBIOLÓGICO.

La solución fabricada, se esteriliza por microfiltración y el proceso de fabricación, no involucra una esterilización terminal. Para justificar que la solución no requiere ser esterilizada por calor húmedo, y comprobar que no permite el desarrollo de microorganismos, fue necesario retarla microbiológicamente

El reto microbiológico de la solución, se llevó a cabo según la FEUM MGA 305 "Efectividad de Preservativos Antimicrobianos".

Se utilizaron las siguientes cepas de microorganismos:

<u>Candida albicans</u>	ATCC 10231
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	ATCC 25619

Staphylococcus aureus

ATCC 6538

Escherichia coli

Aspergillus niger

Se tuvieron como controles, solución de peptona al 1 % y solución placebo. Se determinó la concentración de microorganismos al inició, a los 7 y a los 14 días. Los resultados, se muestran en los siguientes cuadros.

CUADRO 23
RETO MICROBIOLÓGICO
MUESTRA

Concentración en microorganismos / ml

CEPAS	<u>C. albicans</u>	<u>S. aureus</u>	<u>P. aeruginosa</u>	<u>E. coli</u>	<u>A. niger</u>
CONCENTRACION INICIAL	1.6×10^4	2.3×10^4	1.8×10^4	1.7×10^4	1.2×10^4
CONCENTRACION A LOS 7 DIAS	0	0	0	0	0
CONCENTRACION A LOS 14 DIAS	0	0	0	0	0

CUADRO 24
RETO MICROBIOLOGICO
PLACEBO

Concentración en microorganismos / ml

CEPAS	<u>C. albicans</u>	<u>S. aureus</u>	<u>P. aeruginosa</u>	<u>E. coli</u>	<u>A. niger</u>
CONCENTRACION INICIAL	1.6 x 10 ⁴	2.3 x 10 ⁴	1.8 x 10 ⁴	1.7 x 10 ⁴	1.2 x 10 ⁴
CONCENTRACION A LOS 7 DIAS	0	0	0	0	0
CONCENTRACION A LOS 14 DIAS	0	0	0	0	0

CUADRO 25
RETO MICROBIOLOGICO
PEPTONA

Concentración en microorganismos / ml

CEPAS	<u>C. albicans</u>	<u>S. aureus</u>	<u>P. aeruginosa</u>	<u>E. coli</u>	<u>A. niger</u>
CONCENTRACION INICIAL	1.6 x 10 ⁴	2.3 x 10 ⁴	1.8 x 10 ⁴	1.7 x 10 ⁴	1.2 x 10 ⁴
CONCENTRACION A LOS 7 DIAS	1.7 x 10 ⁴	6.2 x 10 ⁴	INCONTABLE	INCONTABLE	INCONTABLE
CONCENTRACION A LOS 14 DIAS	INCONTABLE	INCONTABLE	INCONTABLE	INCONTABLE	INCONTABLE

Los resultados indican que la solución muestra y el placebo, no permiten el desarrollo microbiano y por lo tanto, no es necesario adicionar un agente conservador. De los componentes de la formulación, el principio activo y el propilenglicol a altas concentraciones, tienen un efecto antimicrobiano. También se comprueba que en caso de una contaminación accidental, la solución no permite el desarrollo de microorganismos.

11. ISOTONICIDAD DE LA SOLUCIÓN

Una solución es isotónica con una célula cuando al estar en contacto con ésta, la célula no pierde o gana agua y no presenta ningún otro cambio.

La isotonicidad se calculó por el método de equivalentes de cloruro de sodio ⁽²⁴⁾. Este método se basa en que la sangre así como otros fluidos biológicos, tienen una presión osmótica igual a una solución al 0.9 ‰ de NaCl.

Un equivalente de NaCl es el peso de NaCl que produce el mismo efecto osmótico que un gramo de la sustancia en solución. El valor de Eq. NaCl se puede encontrar reportado en la literatura ^(19,23,24) o se puede calcular por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Eq NaCl} = 17 \frac{\text{L iso.}}{\text{peso molecular}}$$

Valor L iso para un no electrolito : L iso = 1.9

Valor L iso para un electrolito débil : L iso = 2.0 ⁽¹⁹⁾

CUADRO 26

EQUIVALENTES DE CLORURO DE SODIO

COMPUESTO	EQUIVALENTE DE CLORURO DE SODIO	REFERENCIA
METRONIDAZOL	0.19	CALCULADO
METILIDEN	0.31	CALCULADO
PROPILENGLICOL	NO EJERCE PRESION OSMOTICA	28
ANTICRISTALIZANTE	0.01	24
AMORTIGUADOR DEL pH (ACIDO)	0.56	CALCULADO
AMORTIGUADOR DEL pH (SAL)	0.46	24

La solución se administra diluyendo 10 ml en 100 ó 500 ml de solución salina isotónica (SSI) por lo que se calculó la isotonicidad de la solución final en ambos casos. Los cálculos se realizaron de la siguiente manera.

$$\frac{\text{g del compuesto}}{\text{Volumen total}} \times 100 \times \text{Eq. NaCl} = \text{Eq. NaCl de cada componente en la solución final}$$

$$\text{Eq NaCl de la solución} = \Sigma \text{ Eq. NaCl de cada componente}$$

1) Solución diluída en 100 ml de SSI

Volumen final = 110 ml

Metronidazol

$$\frac{0.2 \text{ g}}{110 \text{ ml}} \times 100 \times 0.19 = 0.0345 \text{ Eq NaCl}$$

Metiliden

$$\frac{1.0 \text{ g}}{110 \text{ ml}} \times 100 \times 0.31 = 0.2817 \text{ Eq NaCl}$$

Anticristalizante

$$\frac{0.5 \text{ g}}{110 \text{ ml}} \times 100 \times 0.01 = 0.0045 \text{ Eq NaCl}$$

Amortiguador del pH (ácido)

$$\frac{0.62 \text{ g}}{110 \text{ ml}} \times 100 \times 0.56 = 0.03136 \text{ Eq NaCl}$$

Amortiguador del pH (sal)

$$\frac{0.027 \text{ g}}{110 \text{ ml}} \times 100 \times 0.46 = 0.0110 \text{ Eq NaCl}$$

Cloruro de sodio

$$\frac{0.9 \text{ g}}{110 \text{ ml}} \times 100 = 0.8181 \text{ Eq NaCl}$$

$$\begin{aligned} \text{E Eq NaCl} &= 0.0345 + 0.2817 + 0.0045 + \\ &0.0313 + 0.0110 + 0.8181 = 1.1811 \end{aligned}$$

El equivalente de NaCl de la solución final en 100 ml de SSI es mayor a 0.9 % , por lo tanto es ligeramente hipertónica.

2) Solución diluida en 500 ml de SSI

Volumen final = 510 ml

Metronidazol

$$\frac{0.2 \text{ g}}{510 \text{ ml}} \times 100 \times 0.19 = 0.0074 \text{ Eq NaCl}$$

Metiliden

$$\frac{1.0 \text{ g}}{510 \text{ ml}} \times 100 \times 0.31 = 0.0607 \text{ Eq NaCl}$$

Anticristalizante

$$\frac{0.5 \text{ g}}{510 \text{ ml}} \times 100 \times 0.01 = 0.00098 \text{ Eq NaCl}$$

Amortiguador del pH (ácido)

$$\frac{0.62 \text{ g}}{510 \text{ ml}} \times 100 \times 0.56 = 0.0067 \text{ Eq NaCl}$$

Amortiguador del pH (sal)

$$\frac{0.027 \text{ g}}{510 \text{ ml}} \times 100 \times 0.46 = 0.0024 \text{ Eq NaCl}$$

Cloruro de sodio

$$\frac{4.5 \text{ g}}{510 \text{ ml}} \times 100 = 0.8823 \text{ Eq NaCl}$$

$$\Sigma \text{ Eq NaCl} = 0.0074 + 0.0607 + 0.00098 + \\ 0.0067 + 0.0024 + 0.8823 = 0.96048$$

La solución diluida en 500 ml de SSI tiene un equivalente de cloruro de sodio más cercano a 0.9 % que la solución diluida en 100 ml. La solución cumple con lo establecido por Cadwallader (7,8) para proteger a los eritrocitos, ya que al diluir la solución en 100 ó 500 ml de SSI tienen de un 0.8 a 0.9 % de cloruro de sodio y la concentración de propilenglicol en la solución final, es de 1.37 % (7g/ 510 ml) o 6.36 (7g/ 110 ml) que es menor al 30 %.

ANALISIS DE RESULTADOS

1. El factor decisivo para la elección de proveedor de metronidazol, es la distribución de tamaño de partícula, ya que la presencia de partículas grandes, hace necesario un tamizado previo y aumenta el tiempo de disolución y preparación del producto. Al evaluar el metronidazol de dos diferentes proveedores, se eligió trabajar con el proveedor I ya que presentó un 0.8 % de partículas mayores a 240 μm , mientras que el proveedor II un 4.5 %.

2. Los disolventes puros en los que el metronidazol tiene una solubilidad mayor a 20 mg/ml, son el polietilenglicol 400, glicofurol y metiliden.

3. Los sistemas de disolventes en los que se alcanza una solubilidad mayor a 20 mg/ml son:
 - i. Polietilenglicol 400 - agua con una concentración de Polietilenglicol mayor a 60 %.
 - ii. Propilenglicol-agua con aproximadamente una concentración de propilenglicol del 65 al 90 %.
 - iii. Glicofurol-agua con una concentración de glicofurol mayor al 35 %.
 - iv. Metiliden-agua con una concentración de metiliden mayor al 15 %.

4. Se obtuvieron 5 formulaciones físicamente estables durante 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente y refrigeración. De estas, se continuó trabajando con las dos formulaciones de menor costo que cumplían con la definición farmacopéica. Los sistemas de disolventes utilizados fueron los siguientes:
- 3) PEG 400 (90 %) agua (10 %)
- 26) Propilenglicol (70 %) metiliden (10 %) agua (20 %)
5. Como resultado de la optimización de las formulación 26, se encontró que la utilización de anticristalizante, mejora la estabilidad física de la solución.
6. Las soluciones, son factibles de ser producidas a escala industrial y permiten un manejo adecuado por parte del usuario si tienen una viscosidad menor a 39 cps. La solución 3 se eliminó del estudio por tener una viscosidad de 88 cps.
7. Se obtuvo una formulación (No. 34) físicamente estable durante 5 meses de almacenamiento a temperatura ambiente y a 4 °C. Su composición es la siguiente:

Metronidazol	0.2 g
Propilenglicol	7.0 g
Metiliden	1.0 g
Anticristalizante	0.5 g
Amortiguador del pH	c.s
Agua c.b.p.	10 ml

8. El estudio preliminar de estabilidad química acelerada indica que la solución es químicamente estable ya que no hay una degradación del metronidazol mayor al 10 % en 3 meses de almacenamiento a temperatura ambiente, refrigeración, 35, 45 y 60 ° C. Así mismo, el pH se mantuvo dentro del intervalo establecido.
9. Se demostró la estabilidad microbiológica de la solución al realizarse pruebas de esterilidad al inicio y a los 3 meses de almacenamiento a temperatura ambiente.
10. Al retar microbiológicamente a la solución, y no observarse crecimiento microbiano durante 14 días de prueba, se comprobó que no es necesario adicionar conservadores ni esterilizarla terminalmente en el proceso de fabricación.
11. La solución tiene un equivalente de cloruro de sodio de 1.18 si se diluye en 100 ml de SSI y 0.96 si se diluye en 500 ml. Ambas soluciones cumplen con lo establecido por Cadwallader (7,8) para evitar la hidrólisis de los eritrocitos, ya que se adiciona 0.8 a 0.9 % de NaCl y la concentración de propilenglicol, es menor a 30 %.
12. Por tratarse de una solución ligeramente hipertónica, se debe administrar lentamente.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que se logró el objetivo inicialmente planteado, ya que se desarrolló una solución de metronidazol para administración intravenosa, que es física, química y microbiológicamente estable, de un costo adecuado y factible de ser producida a escala industrial.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Akers M.J. (1984)
Considerations in Selecting Antimicrobial Preservative Agents
for Parenteral Product Development.
Pharm. Techn. 36 may
- 2.- Banker A., Rhodes Ch. (Ed.) (1990)
Modern Pharmaceutics (Vol.40)
Drugs and Pharmaceutical Sciences.
USA: Marcel Dekker, Inc.
- 3.- Bowman W. C., Rand M. J. (1984)
Farmacología. Bases Bioquímicas y Patológicas.
México: Nueva Editorial Interamericana.
- 4.- British Farmacopoeia (1988)
Vol. 1
U.K. Her Majesty's Stationery Office
- 5.- Bühler V. (1992)
KOLLIDON, Polyvinylpyrrolidone for the Pharmaceutical
Industry
Alemania: BASF
- 6.- Cano S. B., Glogiewicz M.S. (1986)
Storage Requirements for Metronidazole Injection
Am. J. Hosp. Pharm. 43, 2983
- 7.- Cadwallader D.E. (1963)
Behavior of Erythrocytes in Various Solvent Systems.I.
J. Pharm Sci 52, 1175
- 8.- Cadwallader D.E., Wickliffe B.W., Smith B.L. (1964)
Behavior of Erythrocytes in Various Solvent Systems II.
J. Pharm. Sci. 53, 927

- 9.- Carpenter Ch. P., Shaffer B. (1952)
A study of polyethylenglycols as Vehicles for Intramuscular
and Subcutaneous Injection
J. Am. Pharm. Ass. 41, 27

- 10.- Clarke's Isolation and Identification of Drugs (1986)
The Pharmaceutical Press
London

- 11.- Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México
A.C.
Proyecto de Norma Técnica sobre los Requisitos Mínimos para
las Pruebas de Estabilidad para Medicamentos y Materia
Prima.

- 12.- Cho, M.J., Kurtz R.R, Lewis C, Machkovech S.M. Houser D.J.
(1982) Metronidazole Phosphate - A water soluble Prodrug
for Parenteral Solutions of Metronidazole
J. Pharm Sci. 71, 410

- 13.- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (1988)
5a ed. México.

- 14.- Food and Drug Administration (F.D.A) (1987)
Guideline for Submitting Documentation for the Stability of
Human Drugs and Biologics.
USA

- 15.- George, W. L., Kirby D.B., Sutter V.L. Wheeler L.A. Mulligan
M. E. Finegold S. M. (1982)
Intravenous Metronidazole for treatment of Infections
involving anaerobic bacteria.
Antimicrob Agents Chemother. 21, 441

- 16.- Goodman G. A., Goodman L. (Eds.) (1988)
Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica (7a. ed).
Argentina: Ed. Médica Panamericana.

- 17.- Gutiérrez S. C., Cordero G.E., González A. J. , Zárate A.
A., Guarner D.V., (1976)
Metronidazol Parenteral en Amibiasis Intestinal
Semana Médica de México, 57, 293

- 18.- Handbook of Pharmaceutical Excipients (1986)
American Pharmaceutical Association
USA: The Pharmaceutical Society of Great Britain
- 19.- Helman J. (Ed) (1980)
Farmacotécnica Teórica y Práctica (tomos 2 y 4)
México: Cía. Editorial Continental.
- 20.- Lachman L., Lieberman H. (3a. ed.) (1986)
The theory and practice of Industrial Pharmacy
USA: Lea & Febiger
- 21.- Litter M. M. (1986)
Farmacología Experimental y Clínica (7a. Ed.)
Argentina: Ed. El Ateneo.
- 22.- Martindale (1989)
The Extra Pharmacopoeia
29 th ed.
U.K. The Pharmaceutical Press.
- 23.- The Merk Index Tenth Edition (1983)
Merck & Co. Inc.
- 24.- Osol A. (Ed.) (1980)
Remington's Pharmaceutical Sciences
16th ed.
USA Mack Publishing Company
- 25.- PDA Enviromental Task Force (1990)
Fundamentals of a Microbiological Enviromental Monitoring
Program
J. Parent. Sci. Techn. 44, 83
- 26.- Rivera H. R., Nieto de Pascual R., Whizar L. V. (1974)
Valoración del Metronidazol Endovenoso en el Absceso Hepático
Amebiano Complicado.
Investigación Médica Internacional 1, 124
- 27.- Ruddick J. A. (1972)
Toxicology, Metabolism, and Biochemistry of
1, 2 - Propanediol
Toxicol Appl. Pharmacol. 21, 102

- 28.- Setnikar I., Telmelcou O. (1959)
Osmotic Concentration and Osmotic Pressure in Inyectable Solutions.
J. Am Pharm Ass. 48, 628
- 29.- Smith L. B., Cadwallader D. E. (1967)
Behavior of Erythrocytes in Various Solvent Systems III.
J. Pharm. Sc. 56, 351
- 30.- Spiegel A. J., Noseworthy M. M. (1963)
Use of Nonaqueous Solvents in Parenteral Products
J. Pharm Sci. 52. 917
- 31.- Stanbaugh, J. E., Leo G.G. Manthei R. W. (1968)
The Isolation and Identification of the Urinary Oxidative Metabolites of Metronidazole in Man
J. Pharm Exp. Ther 161, 373
- 32.- Terribile P.D. (1990)
Validation of Bacterial Endotoxin Tests for Drug Products
Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas 20, 32
- 33.- Turco S., King E. R. (1979)
Sterile Dosage Forms (2nd. Ed.)
USA: Lea & Febiger
- 34.- United States Pharmacopeia XXII
National Formulary XVII (1989)
U.S. Pharmacopeial Convention, Inc.
- 35.- Vermeersch H. Remon J. P., Permentier D. Schacht E. (1990)
In Vitro Antithrichomonal Activity of Water Soluble Prodrug Esters of Metronidazole.
Int. J. Pharm., 60, 253
- 36.- Wearley, L. L. Gaylord, D. A. (1976)
Metronidazol. Analytical Profiles of Drug Substances
Vol. 5 K. Florey (Ed) 327-344
USA: Academic Press.